



УДК 575.22:582.632.2(470.61)

Эколого-генетическая дифференциация ценопопуляций *Quercus robur* L. на территории Ростовской области с применением ISSR-маркеров

В. А. Чохели¹, Д. И. Каган², Т. В. Вардун¹, Б. Л. Козловский¹, М. М. Серeda¹,
О. А. Капралова¹, П. А. Дмитриев¹, В. Е. Падутов²

¹ Ботанический сад Южного федерального университета, пер. Ботанический спуск 7,
г. Ростов-на-Дону, 344041, Россия. E-mail: vasochoha@yandex.ru

² Институт леса НАН Беларуси, ул. Пролетарская, 71, г. Гомель, 246001, Беларусь. E-mail: quercus-belarus@mail.ru

Ключевые слова: генетическая изменчивость, дуб черешчатый, дубовые насаждения, ожидаемая гетерозиготность, экотоп.

Аннотация. Изложены результаты изучения популяционных характеристик ценопопуляций дуба черешчатого (*Quercus robur* L.): абсолютное число аллелей (n_a), эффективное число аллелей (n_e), ожидаемая гетерозиготность (H_e). В среднем по всем ценопопуляциям значение ожидаемой гетерозиготности составило 0,3848. Также изучено генетическое разнообразие экотопов на основании среднего уровня ожидаемой гетерозиготности. Показано, что в ряду экотопов «пойменный → аренный → байрачный» наблюдается взаимосвязь между величиной показателя средней ожидаемой гетерозиготности и почвенным гидрологическим режимом.

Ecological and genetic differentiation of populations of *Quercus robur* L. in the Rostov Region with the use of ISSR-markers

V. A. Chokheli¹, D. I. Kagan², T. V. Varduny¹, B. L. Kozlovsky¹, M. M. Sereda¹,
O. A. Kapralova¹, P. A. Dmitriev¹, V. E. Padutov²

¹ Botanical garden of the Southern Federal University, per. Botanicheskij spusk, 7, Rostov-on-Don, 344041, Russian Federation

² Institute of forest NAS of Belarus, Proletarskaya str. 71, 246001, Gomel, Belarus

Keywords: ecotope, genetic variability, oak plantations, pedunculate oak, expected heterozygosity.

Summary. The results of the study of population characteristics of *Quercus robur* L. cenopopulations are presented: absolute number of alleles (n_a), effective number of alleles (n_e), expected heterozygosity (H_e). For all populations the average value of expected heterozygosity was 0.3848. The genetic diversity of ecotopes was also studied on the basis of the average level of expected heterozygosity. It is shown that in a row of ecotopes “floodplain → arena → ravine” there is a relationship between the magnitude of the average expected heterozygosity and the soil hydrological regime.

Введение

Quercus robur L. (дуб черешчатый) является ценным древесным видом, который обладает продолжительным онтогенезом и перспективен для создания долговечных искусственных насаждений рекреационного и мелиоративного назна-

чения как в степной зоне России, так и в других странах (Wesolowski, Rowinski, 2008; Kozlovskiy et al., 2015). Эффективное создание искусственных лесных насаждений должно быть основано на использовании генетически разнообразного и качественного посадочного материала. Внутри-

и межпопуляционные взаимодействия играют ключевую роль в формировании устойчивости к экологическим факторам среды (Slatkin, 1987; Gabitova et al., 2012). В связи с этим актуальным является анализ эколого-генетических характеристик ценопопуляций дуба черешчатого с использованием молекулярно-генетических маркеров для количественной оценки популяционно-генетических параметров. На большей части ареала *Q. robur* достаточно детально исследована его популяционная структура (Kovalevich et al., 2010; Karpechenko et al., 2011; Gabitova et al., 2012; Kamalova et al., 2014).

В связи с этим целью данной работы является изучение генетических характеристик ценопопуляций дуба черешчатого в зависимости от условий мест произрастания.

Материалы и методы

Для ценопопуляционных исследований объектами послужили деревья *Q. robur* из различных мест произрастания. Отобранные нами ценопопуляции произрастали в естественном ареале *Q. robur* на территории Ростовской области (табл. 1).

Таблица 1

Местонахождение ценопопуляций *Quercus robur*, произрастающих на территории Ростовской области

№ п/п	Наименование ценопопуляции	Географическая локализация	Код*	Широта	Долгота
1	Урочище «Черная балка»	Ростовская область, Белокалитвинский район	ЧБ	48°5'51,536"	40°44'26,209"
2	Урочище «Филькино»	Ростовская область, Белокалитвинский район	Ф	48°26'28,175"	40°48'59,102"
3	Песковатско-Лопатинский лес	Ростовская область, Верхнедонской район	ПЛ	49°58'53,209"	41°18'32,512"
4	Урочище «Хоботок»	Ростовская область, Каменский район	Х	48°17'8,807"	40°23'10,394"
5	Урочище «Липяги»	Ростовская область, Кашарский район	Л	49°19'5,14"	40°56'16,749"
6	Урочище «Ореховое»	Ростовская область, Кашарский район	Ор	49°3'0,827"	40°57'22,251"
7	Степные колки	Ростовская область, Тарасовский район	Ск	48°39'37,908"	40°57'4,192"
8	Кундрюченские пески	Ростовская область, Усть-Донецкий район	Кп	47°47'2,458"	40°56'4,438"
9	Раздорские склоны	Ростовская область, Усть-Донецкий район	Рс	47°37'13,541"	40°41'43,335"
10	Урочище «Веденево»	Ростовская область, Чертковский район	В	49°36'18,938"	40°35'59,741"
11	Куйбышевский лес	Ростовская область, Куйбышевский район	К	47°48'45,672"	38°53'41,522"
12	Чернышевские пески	Ростовская область, Советский район	Чп	49°01'26,385"	42°12'29,424"
13	Крыйдянный лес	Ростовская область, Чертковский район	Кр	49°24'11,36"	40°13'4,40"

Примеч.: * представлено условное обозначение ценопопуляции, далее используемое в тексте и таблицах

В каждой ценопопуляции было отобрано по 20 деревьев, находящихся на расстоянии не менее 10 метров друг от друга. Всего было проанализировано 260 образцов дуба черешчатого.

Изученные ценопопуляции систематизировали по различным экологическим условиям произрастания (экотопам) (Zozulin, 1992; Turchin, Korobova, 2014), описания которых были взяты

из монографии «Леса нижнего Дона» (Zozulin, 1992) и Постановления Администрации Ростовской области № 418 о памятниках природы (Postanovleniye Administratsii ..., 2006). Все 13 ценопопуляций были разделены на 3 группы (экотопа):

А. **Байрачные леса.** Древесные насаждения, которые произрастают только по склонам балок

(байраков). К данной группе относятся: Песковатско-Лопатинский лес (ПЛ), Урочище «Филькино» (Ф), Урочище «Липяги» (Л), Раздорские склоны (Рс), Крыйдянный лес (Кр), Ореховая балка (Ор), Черная балка (Чб), Урочище «Веденеево» (В).

Б. Аренные леса. Древостой, находящиеся на аренах (песчаных массивах). К данной группе были отнесены: Кундрюченские пески (Кп), Чернышевские пески (Чп) – искусств., Степные колки (Ск).

В. Пойменные леса. Ценопопуляции, расположенные в пойме реки: Урочище «Хоботок» (Х), Куйбышевский лес (К) – искусств.

Экстракцию ДНК проводили из листьев, которые предварительно были продезинфицированы и обработаны детергентом TWIN-80. Выделение ДНК осуществляли сорбентным методом с использованием коммерческого набора «Сорб-ГМО-Б» (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Для ISSR-анализа использовали двойную очистку. После выделения по протоколу производили дополнительную очистку ранее полученной ДНК, используя половинные объемы реактивов и минуя стадию лизиса клеток в термостате.

Концентрацию ДНК определяли по стандартным методикам в соответствии с протоколом производителя на анализаторе Qubit 3.0 (Invitrogen, США), после чего все образцы ранжировали до концентрации 5 нг/мкл.

Для популяционно-генетического анализа использовался межмикросателлитный (ISSR) анализ. ISSR-праймеры подбирались на основе литературных данных (Lopez-Aljorna et al., 2007; Coutinho et al., 2014, 2015). Отобранные праймеры хорошо зарекомендовали себя в наших исследованиях (Chokheli et al., 2014, 2018).

ПЦР-смесь готовили из расчета на один образец:

H₂O (DD) – 15,8 мкл, 25 мМ раствор нуклеотидов 10×dNTP – 2,5 мкл, 10×буфер для ПЦР – 2,5 мкл, 25 мМ хлорид магния (MgCl₂) – 2,5 мкл, мутантная Taq-полимераза – 0,2 мкл (5 ед./мкл), ДНК-матрица (концентрация 5 нг/мкл) – 1 мкл, праймер (30 пМ/мкл) – 0,5 мкл.

Общий объем ПЦР-смеси – 25 мкл. Амплификация проводилась в термоциклере T100 ThermalCycler (BIO-RAD, США). Протокол амплификации: 1. 94 °C – 1:00 мин.; 2. 94 °C – 0:30 с.; 3. T_a °C – 0:45 с. (табл. 2); 4. 72 °C – 2:00 мин.; 5. 35 циклов пункты 2–4; 6. 72 °C – 5:00 мин.; 7. Хранение при 4 °C.

Таблица 2

Анализ информативности праймеров по 13-ти ценопопуляциям *Quercus robur*

Название ISSR-праймера	Нуклеотидная последовательность(5'→3')	Температура отжига, (T _a , °C)	Длина фрагментов, п. н.	Число фрагментов на общую выборку
UBC 811	(GA) ₈ C	53	225–1250	40
UBC 835	(AG) ₈ YC	52	250–1600	45
UBC 841	(GA) ₈ YC	52	375–1650	47
UBC 857	(AC) ₈ YG	52	200–1550	45
UBC 880	(GGAG) ₄	53	225–1650	49
Итого				226

Разделение фрагментов проводили электрофорезом в 2%-м агарозном геле с использованием 1×TBE-буфера (Tris, Boric acid, EDTA) при напряжении 90 В, 3 часа, источник питания – PowerPacBasic (BIO-RAD, США). Окрашивание ДНК производили красителем SYBR Green I x80 (Lumiprobe, США) из соотношения 2 мкл красителя на 5 мкл ампликонов, съемку – в гельдокументирующей системе GelDoc XR+ (BIO-RAD, США) с программным обеспечением ImageLab версии 6.0 (BIO-RAD, США). Маркер длин ДНК фрагментов 100+ bp DNA Ladder (Евроген, Россия) добавляли по 7 мкл в лунку.

Компьютерную обработку полученных фореграмм проводили при помощи программы

РуElph 1.4, с последующим представлением в виде матрицы бинарных данных. При этом учитывали только воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты, изменчивость по интенсивности не учитывалась. Компьютерный анализ полиморфизма ДНК проведен с помощью программы POPGENE 1.32.

Результаты и их обсуждение

На основании анализа полученных электрофореграмм установлено, что число ISSR-фрагментов на общую проанализированную выборку варьировало от 40 (праймер UBC 811) до 49 (праймер UBC 880). Среднее число фрагментов составило 45,5; всего детектировано 226

фрагментов (табл. 2). Длина фрагментов уклады- валась в диапазон от 200 п.н. (праймер UBC 857) до 1650 п.н. (праймеры UBC 841 и UBC 880).

Для изученных ценопопуляций *Q. robur* были рассчитаны основные показатели генетической изменчивости. Так, абсолютное число аллелей

(n_a) варьировало от 1,3929 для ценопопуляции Кп – Кундрюченские пески (Нижне-Кундрюченское лесничество, Усть-Донецкий лесхоз) до 1,9917 для ценопопуляции Кр – Крыйдянный лес (Журавское лесничество, Чертковский лесхоз) (табл. 3).

Таблица 3

Генетическое разнообразие ценопопуляций *Quercus robur* на основании полиморфизма ISSR-PCR маркеров

	$n_a (\bar{x} \pm \sigma)$	$n_e (\bar{x} \pm \sigma)$	$H_e (\bar{x} \pm \sigma)$	A	P, %
Кр	1,9917 ± 0,0913	1,4977 ± 0,2851	0,3078 ± 0,1317	119	52,65
ПЛ	1,4478 ± 0,5010	1,3166 ± 0,3543	0,1855 ± 0,2075	30	13,27
Рс	1,9912 ± 0,0937	1,5124 ± 0,2970	0,3127 ± 0,1356	113	50,00
Ф	1,9398 ± 0,2394	1,5430 ± 0,3335	0,3199 ± 0,1524	78	34,51
Чп	1,9483 ± 0,2224	1,5854 ± 0,3182	0,3410 ± 0,1443	110	48,67
В	1,8298 ± 0,3778	1,4650 ± 0,3440	0,2797 ± 0,1665	78	34,51
К	1,8319 ± 0,3757	1,5073 ± 0,3195	0,3028 ± 0,1645	94	41,59
Кп	1,3929 ± 0,4973	1,2778 ± 0,3517	0,1627 ± 0,2060	11	4,87
Л	1,9126 ± 0,2838	1,5996 ± 0,3120	0,3485 ± 0,1406	94	41,59
Ор	1,8947 ± 0,3082	1,5030 ± 0,3209	0,3021 ± 0,1569	102	45,13
Ск	1,9355 ± 0,2467	1,5359 ± 0,3055	0,3215 ± 0,1418	116	51,33
Х	1,8939 ± 0,3091	1,5565 ± 0,3144	0,3279 ± 0,1511	118	52,21
Чб	1,5696 ± 0,4983	1,4205 ± 0,4472	0,2269 ± 0,2241	45	19,91
Все локусы	2,0000 ± 0,0000	1,6683 ± 0,2559	0,3848 ± 0,1047	226	100,00

Примеч.: n_a – абсолютное число аллелей; n_e – эффективное число аллелей; H_e – ожидаемая гетерозиготность; А – число полиморфных локусов; Р – процент полиморфных локусов.

Эффективное число аллелей (n_e) вошло в диапазон от 1,2778 для ценопопуляции Кп – Кундрюченские пески (Нижне-Кундрюченское лесничество, Усть-Донецкий лесхоз) до 1,5996 для Л – урочище «Липяги» (Киевское лесничество, Кашарский лесхоз). Среднее число эффективных аллелей по всем локусам составило 1,6683. Количество полиморфных локусов и процент полиморфизма в изученных ценопопуляциях *Q. robur* варьировало от 11 (4,87 %) для Кп – Кундрюченские пески (Нижне-Кундрюченское лесничество, Усть-Донецкий лесхоз) до 119 (52,65 %) для Кр – Крыйдянный лес (Журавское лесничество, Чертковский лесхоз).

Распределение ожидаемой гетерозиготности (H_e) в среднем по всем ценопопуляциям составило 0,3848, где минимальная ожидаемая гетерозиготность установлена для ценопопуляции Кп – Кундрюченские пески (Нижне-Кундрюченское лесничество, Усть-Донецкий лесхоз) ($H_e = 0,1627$), а максимальная – для ценопопуляции Л – урочище «Липяги» (Киевское лесничество, Кашарский лесхоз) ($H_e = 0,3485$).

На основе данной таблицы были рассчитаны средние значения для каждой группы экотопов

(рис.). Средние значения рассчитывали по формуле среднего взвешенного. На рисунке показано, что все экотопы характеризуются достоверными различиями (по t-критерию Стьюдента при $p = 0,05$) по средним значениям уровня ожидаемой гетерозиготности (H_e) для каждого экотопа. Сравнение средних проводили попарно (Grativol et al., 2011; Melnikova et al., 2014; Sheykina et al., 2014). Так, среди природных ценопопуляций дуба черешчатого наивысшим средним уровнем ожидаемой гетерозиготности (табл. 4) обладает пойменный экотоп (0,3140), средним – аренный (0,3104) экотоп, а наименьшим – байрачный (0,2965).

Таким образом, на примере ценопопуляций *Q. robur* Ростовской области показано, что в ряду экотопов «пойменный → аренный → байрачный» наблюдается взаимосвязь между величиной показателя средней ожидаемой гетерозиготности и почвенным гидрологическим режимом: чем выше степень увлажнения, тем выше и показатели гетерозиготности. Так, наибольшее водное снабжение характерно для пойменных экотопов, далее по нисходящей следует аренный экотоп, который находится на надпойменными

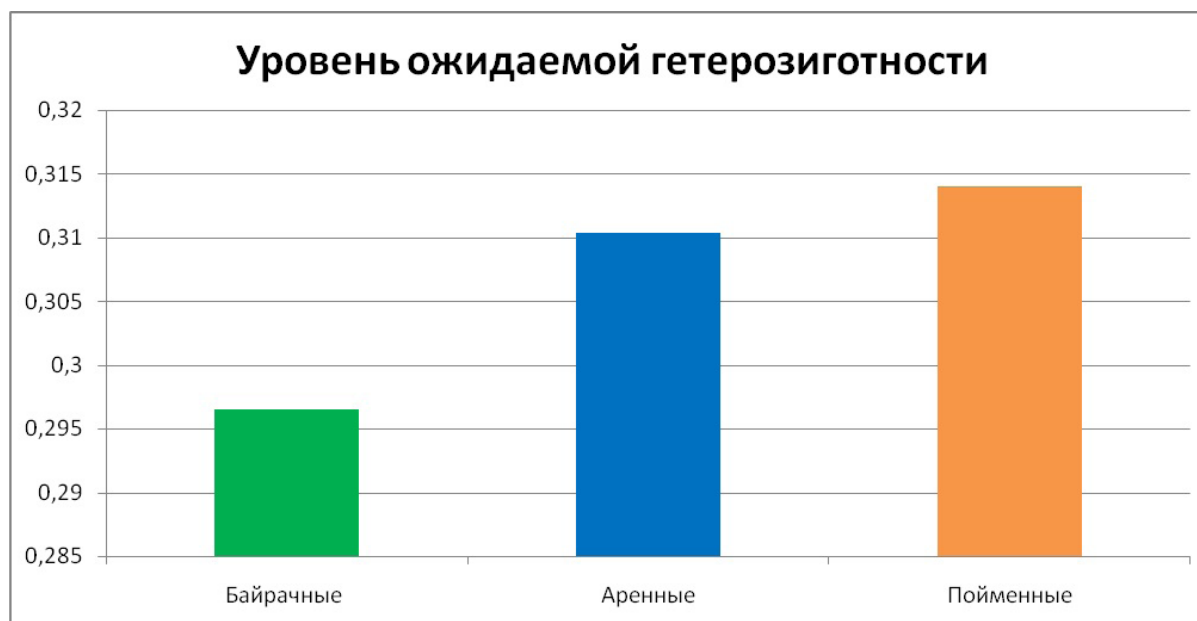


Рис. Диаграмма среднего уровня ожидаемой гетерозиготности в изученных экотопах *Quercus robur* на территории Ростовской области.

Таблица 4

Уровень генетического разнообразия экотопов *Quercus robur*

		H_e
Байрачный экотоп	Рс	0,3127
	Кр	0,3078
	Ор	0,3021
	Чб	0,2269
	В	0,2797
	ПЛ	0,1855
	Ф	0,3199
	Л	0,3485
	Среднее*	0,2965**
Аренный экотоп	Чп	0,3410
	Ск	0,3215
	Кп	0,1627
	Среднее*	0,3104**
Пойменный экотоп	Х	0,3279
	К	0,3028
	Среднее*	0,3140**

Примеч.: * вычисляли среднее взвешенное; ** достоверные различия по t-критерию Стьюдента при уровне значимости 0,05.

террасами, и затем байрачный экотоп, где на дне балок есть небольшие ручьи или родники (Sukachyov, Dylis, 1964; Pogrebnyak, 1968).

Четко видно тенденцию к уменьшению гетерозиготности у более «засушливых» мест произрастания. Это говорит о том, что в поймах более оптимальные условия для произрастания дуба черешчатого, где сохраняется большое разнообразие генотипов. В то же время в байрачных экотопах на ранних этапах формирования древостоя, возможно, происходит элиминация гетерозигот с сохранением гомозигот, по-видимому,

более приспособленных к этим условиям.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации НИР по теме «Разработка стратегии, методов и технологий сохранения и рационального использования биологического разнообразия в условиях природных и урбанизированных территорий степной зоны европейской части России» № 6.6222.2017/8.9.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Chokheli V., Kagan D., Rajput Vishnu, Kozlovsky B., Sereda M., Shmaraeva A., Khibuhina T., Fedyaeva V., Shishlova Zh., Dmitriev P., Varduny T., Kapralova O., Usatov A.** 2018. Genetic variability in cenopopulations of pedunculate oak (*Quercus robur*) in Rostov Region, Russia, with the use of ISSR-markers. *International Journal of Agriculture and Biology* 20(11): 2544–2548. DOI: 10.17957/IJAB/15.0802
- Chokheli V., Kozlovsky B., Sereda M., Lysenko V., Fesenko I., Varduny T., Kapralova O., Bondarenko E.** 2016. Preliminary comparative analysis of phenological varieties of *Quercus robur* by ISSR-markers. *Journal of Botany* 2016: Article ID 7910451. DOI: 10.1155/2016/7910451
- Coutinho J. P., Carvalho J. A., Lima-Brito J.** 2014. Fingerprinting of Fagaceae individuals using inter microsatellite markers. *Journal of Genetics* 93: 132–140. DOI: 10.1007/s12041-014-0460-2
- Coutinho J. P., Carvalho A., Lima-Brito J.** 2015. Taxonomic and ecological discrimination of Fagaceae species based on internal transcribed spacer polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *AOB PLANTS* 7: plu079. DOI: 10.1093/aobpla/plu079
- Gabitova A. A., Boronnikova S. V., Yanbaev Yu. A.** 2012. Ecological impact on genetic variation among populations of pedunculate oak in the Southern Urals. *Vestnik BGAU [Bulletin of BSAU]* 1: 63–65 [In Russian]. (**Габитова А. А., Боронникова С. В., Ямбаев Ю. А.** Экологическая обусловленность межпопуляционной генетической дифференциации дуба черешчатого на Южном Урале // Вестник БГАУ, 2012. № 1. С. 63–65).
- Grativol C., Lira-Medeiros C. F., Hemeryly A. S., Ferreira P. C. G.** 2011. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Mol. Biol. Rep.* 38(7): 4245–4256. DOI: 10.1007/s11033-010-0547-7
- Kamalova I. I., Karpechenko N. A., Vepriyev V. N.** 2014. Experience of using RAPD-markers for identification of clones and families on seed plantations of English oak. In: *VI Syezd Vavilovskogo obshchestva genetnikov i selektsionerov (VOGiS) i assotsiirovannyye geneticheskkiye simpoziumy [VI Congress of Vavilov society of geneticists and breeders (VSGaB) and associated genetic symposia]*. SO RAN, Rostov-on-Don, 172–173 pp. [In Russian]. (**Камалова И. И., Карпеченко Н. А., Веприцев В. Н.** Опыт использования RAPD-маркеров для идентификации клонов и семей на семенных плантациях дуба черешчатого // VI Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) и ассоциированные генетические симпозиумы (Ростов-на-Дону, 15–20 июня 2014 г.): Тез. докл. Ростов-на-Дону: Изд-во СО РАН, 2014. С. 172–173).
- Karpechenko K. A., Semenova V. A., Zemlyanukhina O. A., Karpechenko N. A.** 2011. PCR based molecular genetic method for analysis of specific forms of oak (*Quercus robur*). In: *Sokhranenie lesnykh geneticheskikh resursov Sibiri [Conservation of forest genetic resources of Siberia: Proceedings of the 3rd International meeting]*. SO RAN, Krasnoyarsk, 68 p. [In Russian]. (**Карпеченко К. А., Семенова В. А., Землянухина О. А., Карпеченко Н. А.** Использование молекулярно-генетического метода на основе ПЦР для формоспецифического анализа дуба (*Quercus robur*) // Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири: Материалы 3-го Междунар. совещ. (Красноярск, 23–29 августа 2011 г.). Красноярск: Изд-во СО РАН, 2011. С. 68).
- Kovalevich O. A., Kahan D. I., Padutov V. E.** 2010. Genetic structure and gene geogeography of oak stands in South part of Belarus. *Proceedings of the National Academy of sciences of Belarus. Biological series* 4: 16–19 [In Russian]. (**Ковалевич О. А., Каган Д. И., Падутов В. Е.** Генетическая структура и геогеография дубрав юга Беларуси // Известия нац. Академии наук Беларуси. Сер. Биол. наук, 2010. № 4. С. 16–19).
- Kozlovskiy B. L., Fedorinova O. I., Kuropyatnikov M. V.** 2015. New and perspective sample of *Quercus robur* L. for green building and forestation in the Rostov region. *Nauchny'j zhurnal Kubanskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta [The scientific journal of the KubSAU]* 02(106): 580–591 [In Russian]. (**Козловский Б. Л., Федоринова О. И., Куропятников М. В.** Новый перспективный для зеленого строительства и лесоразведения в Ростовской области образец *Quercus robur* L. // Научный журнал КубГАУ, 2015. № 106(02). С. 580–591).
- Lopez-Aljorna A., Bueno M. A., Aguinalgalde I., Martrin J. P.** 2007. Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees using ISSR and SSR markers. *Ann. For. Sci.* 64: 773–779.
- Melnikova M. N., Senchukova A. L., Pavlov S. D.** 2014. Assessment of efficiency of ISSR markers application for genetic differentiation of the Kamchatka mykiss populations *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss*. In: *Sokhranenie bioraznoobraziya Kamchatki i priliegayushchikh morey [Conservation of biodiversity of Kamchatka and adjacent seas: XV International scientific conference]*. Petropavlovsk-Kamchatsky, pp. 67–70 [In Russian]. (**Мельникова М. Н., Сенчукова А. Л., Павлов С. Д.** Оценка эффективности применения ISSR-маркеров для генетической дифференциации камчатских популяций микижи *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: тезисы докладов XV Междунар. науч. конф. (Петропавловск-Камчатский, 18–19 ноября 2014 г.). Петропавловск-Камчатский, 2014. С. 67–70).
- Pogrebnyak P. S.** 1968. *Obshcheye lesovodstvo [General forestry]*. Kolos, Moscow, 440 pp. [In Russian] (**Погребняк П. С.** Общее лесоводство. М.: Колос, 1968. 440 с.).

Postanovleniye Administratsii Rostovskoy oblasti № 418 o pamyatnikakh prirody ot 19 oktyabrya 2006. [*Resolution of the administration of the Rostov region № 418 on nature monuments of October 19, 2006*] [In Russian]. (**Постановление Администрации** Ростовской области № 418 о памятниках природы от 19 октября 2006).

Sheykina O. V., Gladkov Y. F., Krivorotov T. N. 2014. ISSR analysis of trees from *Pinus sylvestris* L. stands growing under contrast soil conditions. In: *Problems of botany of South Siberia and Mongolia: Proceedings of the 13th International scientific and practical conference*. Koncept, Barnaul, 263–265 pp. [In Russian]. (**Шейкина О. В., Гладков Ю. Ф., Криворотова Т. Н.** ISSR анализ выборок деревьев из насаждений сосны обыкновенной, произрастающих в контрастных почвенных условиях // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сб. науч. статей по материалам Тринадцатой междунар. научн.-практ. конф. (Барнаул, 20–23 октября 2014 г). Барнаул, 2014. с. 263–265).

Slatkin M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787–792.

Sukachyov V. N., Dylis N. V. 1964. *Osnovy lesnoy biogeotsenologii* [*Basics of forest biogeocenology*]. Nauka, Moscow, 576 pp. [In Russian]. (**Сукачѳв В. Н., Дылис Н. В.** Основы лесной биоекоценологии. М.: Наука, 1964. 576 с.).

Turchin T. Y., Korobova Y. V. 2014. Landscape basis of the study of the floodplain forests of the steppe Pridonye (the Don river area). *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [*Bulletin of Altai state agrarian University*] 7(117): 70–74 [In Russian]. (**Турчин Т. Я., Коробова Я. В.** Ландшафтные основы изучения пойменных лесов степного Придонья // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2014. № 7(117). С. 70–74).

Wesolowski T., Rowinski P. 2008. Late leaf development in pedunculate oak (*Quercus robur*). *Skandinavian Journal of Forest Research* 23 (5): 686–394.

Zozulin G. M. 1992. *Lesa Nizhnego Dona* [*Forests of the Lower Don*]. Izdatelstvo Rostovskogo universiteta, Rostov-na-Donu, 200 pp. [In Russian] (**Зозулин Г. М.** 1992. Леса Нижнего Дона. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та, 1992. 200 с.).