

УДК 582.475:581.9+575(470.56)

Филогеографический анализ *Pinus sylvestris* лесостепной и степной зон Оренбургской области

М. В. Рябухина¹, Р. Г. Калякина², Н. В. Фризен^{3,4}

¹ Федеральный научный центр Биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, ул. 9 Января, 29, г. Оренбург, 460014, Россия. E-mail: marija-rjabuhina@mail.ru

² ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ул. Челюскинцев, 18, г. Оренбург, 460014, Россия. E-mail: kalyakina_railya@mail.ru

³ Ботанический сад Университета Оснабрюка, Альбрехтштрассе, 29, г. Оснабрюк, 490776, Германия. E-mail: friesen@biologie.uni-osnabrueck.de

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Измайловский бульвар, 8, г. Москва, 105043, Россия

Ключевые слова: генетический резерват, полиморфный локус, равновесные популяции, сосна обыкновенная, ISSR-анализ, ITS2.

Аннотация. Изучено формирование ареала *Pinus sylvestris* L. (сосны обыкновенной) на стыке европейской, сибирской и туранской флористических областей на южной окраине Уральской горной страны по результатам анализа ISSR. В ходе исследования выявлено, что для исследованных популяций сосны обыкновенной характерен высокий уровень генетического разнообразия. Кластерный анализ показал, что наибольшим генетическим сходством обладают популяции, произрастающие в географически близких местообитаниях. По результатам анализа главных компонент выборка реликтовых сосен делится на 2 группы: европейскую и азиатскую, однако одна из популяций занимает промежуточное положение между двумя группами.

Phylogeographic analysis of *Pinus sylvestris* in forest-steppe and steppe zones of the Orenburg Region

M. V. Rjabuchina¹, R. G. Kalyakina², N. Friesen^{3,4}

¹ Federal Scientific center of Biological systems and agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, str. January 9, 29, Orenburg, 460014, Russian Federation

² “Orenburg state agrarian University”, str. Chelyuskintsev, 18, Orenburg, 460014, Russian Federation

³ Botanical Garden of the University of Osnabrueck, Albrechtstr., 29, 490776, Osnabrück, Germany

⁴ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation, Izmailovsky Boulevard, 8, Moscow, 105043, Russian Federation

Keywords: equilibrium populations, genetic reserve, ISSR-analysis, ITS2, polymorphic locus.

Summary. The formation of the *Pinus sylvestris* L. area at the junction of the European, Siberian and Turan floristic regions on the southern edge of the Ural mountain country was studied based on the ISSR-analysis. The study revealed that the *Pinus sylvestris* in the area is characterized by a high level of genetic diversity. The ISSR-analysis showed that the populations growing in geographically close habitats had the greatest genetic similarity. Based on the

analysis of the main components, the sample of relict pines is divided into 2 groups: European and Asian, but one of the populations occupies an intermediate position between the two groups.

Эффективное функционирование природных экосистем определяется их разнообразием на биосферном, популяционном и видовом уровнях (Pavlov et al., 2009). В настоящее время основной природоохранной задачей является изучение и сохранение адаптивной изменчивости и популяционной структуры видов. В связи с этим особый интерес представляют виды со значительным географическим ареалом и широкой экологической амплитудой условий произрастания, в частности сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), распространенная на большей части территории России (Pimenov, 2015). Данный вид в значительной мере отличается от других видов растений продолжительностью жизни, эволюционным происхождением, значительным размером генома, широкой генетической изменчивостью и хозяйственным значением (Krutovskiy, 2006).

Большое эколого-биологическое значение имеют степные и лесостепные боры и небольшие группы реликтовых сосен, произрастающие на границах ареала, флористических областей, в условиях эколого-географических разностей (Milyutin, 1991; Farjon, 2001; Sannikov, Petrova, 2003; Milyutin et al., 2010).

В частности, особый интерес вызывают реликтовые сосны на территории Оренбуржья, представленные островными борами (Ryabinina, Knyazev, 2009). Флора Оренбуржья отражает специфику пограничного положения на стыке европейской, сибирской и туранской флористических областей на южной окраине Уральской горной страны (Chibilyov, 2015). Согласно физико-географическому районированию (Chibilyov A. A., Chibilyov Ant. A., 2012), территория Оренбургской области находится в пределах трех физико-географических стран – Восточно-Европейской равнины (провинция лесостепного Высокого Заволжья, степная провинция Высокого Заволжья, Северо-Прикаспийская южно-степная провинция), Уральской горной страны (Южно-Уральская низкогорная лесостепная провинция, лесостепная провинция Зауральского плато, Южно-Уральская низкогорная степная провинция, Степная провинция Зауральского плато) и Тургайской равнинной страны.

В условиях сложной структурной организации природных ландшафтов Оренбургской области сосна обыкновенная, предположительно, характеризуется высоким разнообразием гене-

тических признаков, которые сформировались в конкретных, зонально-климатических, эдафических и ценологических условиях. Естественно-экстремальные экотопы Оренбургской области обладают факторами, которые обеспечивают процессы интенсивного формообразования, в частности хорологической цикличностью, при которой периоды стабильности чередуются периодами различного генезиса: засухой, вымоканием, вымораживанием, выгоранием, высокой мозаичностью пространственного распределения реликтовых видов, которые ограничены друг от друга антропогенно трансформированными территориями и естественно-географическими объектами. Замедленные темпы роста реликтовых деревьев в экстремальных экотопах обуславливают низкую скорость конкурентного исключения особей, следовательно, высокую вероятность развития не только доминирующих быстрорастущих форм, но и редких второстепенных вариаций, не сохраняющихся, в большей степени, в оптимальных для вида условиях произрастания (Pimenov, 2015). Совокупность и разнообразие вышеуказанных факторов определяет тот факт, что на территории Оренбургской области наблюдается значительный для сосны обыкновенной набор адаптивных вариаций, которые проявляются филогенетически, что в последствии позволяет рассматривать исследованные площади в качестве действующих районов формообразования.

Филогеографические исследования популяций *Pinus sylvestris* на территории Оренбургской области ранее не проводились. В связи с этим была поставлена цель провести молекулярно-генетические исследования и идентификацию естественных популяций *Pinus sylvestris* в лесостепной и степной зонах Оренбургской области.

Материалы и методы

Объектом исследований служили 8 популяций *P. sylvestris* в степной, лесостепной и лесной зонах Оренбургской области (рис. 1). Сведения о расположении реликтовых насаждений сосны обыкновенной были получены согласно данным Министерства лесного и охотничьего хозяйства Оренбургской области.

Отбор проб был произведен в мае-июне 2017–2018 гг., хвоя отбиралась из средней части

кроны реликтового древостоя и высушивалась в силикагеле. Одной пробе соответствовало одно реликтовое дерево. Количество реликтового древостоя в разных точках отбора проб было различным. В частности, в Понамаревском, Адамовском, Асекеевском р-нах реликтовые деревья встречались единично, а в Бузулукском и Кваркенском – были более распространенными. Количество сохранившегося реликтового древостоя было связано с интенсивностью антропогенного воздействия (нефте-, газодобычи, распашки земель, пожаров). Географические координаты точек отбора проб приведены в таблице 1. Всего для молекулярно-генетических исследований была выделена ДНК из 94 образцов хвои, анализ ISSR проводили на 44 образцах проб (табл. 1).

Выделение суммарной ДНК выполняли СТАБ методом с применением коммерческого набора «Analytikjena» – комплект реагентов для выделения растительной ДНК (Германия). Протокол № 1 коммерческого набора был изменен с целью связывания вторичных метаболитов, которыми богаты ткани хвойных, инактивирующих нуклеиновые кислоты (Ganopoulos et al., 2013). На стадии переноса гомогенизированной жидкости в префильтр для первичной фильтрации был использован сорбент из коммерческого набора Diamond DNA (diamond-dna.ru). Для проведения ПЦР реакции опытным путем были выявлены 6

полиморфных ISSR-праймеров, которые дают воспроизводимый результат (Wachowiak et al., 2009) (табл. 2).

Реакцию ПЦР проводили в амплификаторе Professional Thermocycler Biometra (Германия), по следующей программе: преденатурация – 01:30 мин. при температуре 94 °С, далее 36 циклов (00:45 мин. – +94 °С, 00:45 мин. – +45 °С, 1:30 мин. – +72 °С), заключительный этап – 6:00 мин. – +72 °С и 90:00 мин. при температуре 12 °С. Разделение ДНК проводили в агарозных гелях с концентрацией агарозы 1,5 % в электрофорезной камере в ТВЕ буфере с применением бромистого этидия. Продолжительность электрофореза 3,5–4 часа при напряжении электрического поля 85V. Визуализацию ДНК проводили с помощью системы INTAS science imaging с использованием программы IntagGDS.

В качестве стандарта ДНК использовали маркер 100 bp-DNA Leiter EXTENDED. Результаты электрофореза анализировали по наличию (1) или отсутствию (0) полос в геле, с последующим созданием матрицы. PCA анализ полученных данных был произведен при помощи программы «R» (<https://www.r-project.org>). Построение дендрограммы, отображающей степень сходства исследуемых популяций, а также определение генетической дистанции осуществлялось при помощи программы Mega 7.0 (Kumar et al., 2016).

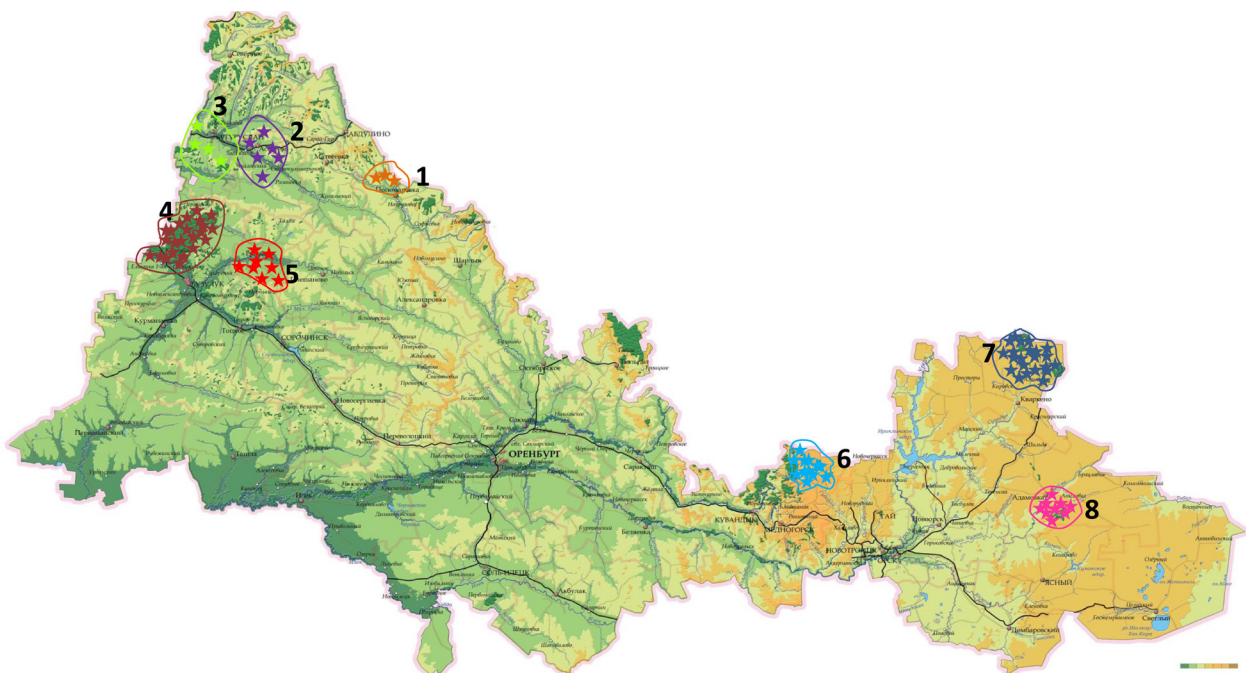


Рис. 1. Схема расположения изученных популяций *Pinus sylvestris* L. Обозначение популяций: 1 – Понамаревском; 2 – Асекеевском; 3 – Бугурусланском; 4 – Бузулукском; 5 – Грачевском р-не; 6 – Кувандыкском; 7 – Кваркенском; 8 – Адамовском р-нах Оренбургской области.

Таблица 1

Характеристика исследованных выборок

Район сбора	№ пробы	Координаты	Физико-географическое районирование Ландшафтно-ботаническая зона
1. Пономаревский	11	53°33,904'N, 054°23,707'E	Восточно-Европейская равнина, лесостепная зона, Заволжско-Предуральская возвышенная провинция, подзона южной леостепи, Бугульминско-Белебеевский округ, луговые (богаторазнотравные) степи
	14	53°33,807'N, 054°23,722'E	
2. Асекеевский	18	53°27,261'N, 052°37,846'E	
	21	53°26,653'N, 052°37,945'E	
	22	53°26,653'N, 052°37,945'E	
3. Бугурусланский	24	53°25,490'N, 052°34,552'E	
	25	53°25,508'N, 052°34,575'E	
	28	53°25,508'N, 052°34,575'E	
	29	53°25,508'N, 052°34,575'E	
4. Бузулукский	45	52°56,144'N, 052°15,420'E	Восточно-Европейская равнина, степная зона, Общесыртовско-Предуральская возвышенная провинция, подзона северной степи, Общесыртовский округ, типчаково-ковыльные степи
	46	52°56,144'N, 052°15,420'E	
	53	53°04,535'N, 052°242,050'E	
	54	53°04,535'N, 052°242,050'E	
	66	53°56,902'N, 052°51,577'E	
	67	53°56,902'N, 052°51,577'E	
	68	52°57,290'N, 052°07,859'E	
	69	52°57,290'N, 052°07,859'E	
5. Грачевский	74	53°07,752'N, 052°51,568'E	Восточно-Европейская равнина, степная зона, Общесыртовско-Предуральская возвышенная провинция, подзона северной степи, Общесыртовский округ, разнотравно-ковыльные степи
	75	53°07,752'N, 052°51,568'E	
	78	53°07,752'N, 052°51,568'E	
6. Кувандыкский	82	53°07,751'N 052°51,577'E	Уральская горная страна, лесостепная зона, Зилаирская-Сакмарская низкогорная провинция, Подобласть гор Южного Урала, луговые (богаторазнотравно-злаковые) степи
	84	53°07,751'N, E052°51,577'E	
	91	51°38,340'N, 057°53,327'E	
	93		
	97		
7. Кваркенский	102	51°38,276'N, 057°54,219'E	Уральская горная страна, лесостепная зона, Зауральская высоко-равнинная провинция, подзона северной степи, разнотравно-ковыльная степь

Таблица 1 (окончание)

Район сбора	№ пробы	Координаты	Физико-географическое районирование Ландшафтно-ботаническая зона
7. Кваркенский	103	51°38,276'N, 057°54,219'E	Уральская горная страна, лесостепная зона, Зауральская высоко-равнинная провинция, подзона северной степи, разнотравно- ковыльная степь
	104	51°38,276'N, 057°54,219'E	
	105	51°38,276'N, 057°54,219'E	
	109	52°16,344'N, 059°48,065'E	
	110	52°16,344'N, 059°48,065'E	
	111	52°16,344'N, 059°48,065'E	
	114	52°14,211'N, 059°49,564'E	
	115	52°14,211'N, 059°49,564'E	
	116	52°14,211'N, 059°49,564'	
	119	52°16,343'N, 059°48,052'	
	120	52°16,343'N, 059°48,052'E	
	121	52°16,343'N, 059°48,052'E	
	122	52°16,343'N, 059°48,052'E	
	123	52°16,343'N, 059°48,052'E	
124	52°10,510'N, 059°44,778'E		
8. Адамовский	129	51°26,805'N, 060°06,449'E	Уральская горная страна, лесостепная зона, Зауральская высоко-равнинная провинция, подзона северной степи, типчаково-ковыльная степь
	130	51°26,805'N, 060°06,449'E	
	132	51°26,805'N, 060°06,449'E	
	134	51°26,805'N, 060°06,449'E	
	137	51°26,655'N, 060°06,656'E	
	140	51°26,655'N, 060°06,656'E	

Изучение последовательности отдельных фрагментов ДНК проводили с целью установления филогенетических связей между выделенными географическими группами сосны обыкновенной. ITS2 фрагмент амплифицировали из 15 образцов, последующее секвенирование проводили из 6 образцов. Реакцию амплификации (ITS2) проводили с использованием праймеров (Rogers et al., 2005, 2006): ITS_Gym3_f (5'-GGACCGATGAAGAATGTAGC-3'); ITS_Gym4b_r (5'-GGGGAATCCTGGTTAGTTTC-3').

Амплификацию проводили с использованием полимеразы MyTaq™ RedMix (www.bioline.com) по программе, предложенной Rogers et al. (2005), при следующем режиме: преденатурация – 4 мин. при температуре +94 °C, далее 31 цикл (60 с – +95 °C, 45 с – +55 °C, 110 с – +72 °C), заключительный этап – 7 мин при +72 °C и 90 мин при +12 °C.

Для очистки и прочтения нуклеотидных последовательностей амплификаты отправлялись в лабораторию Microsynth Seqlab Göttingen,

Germany (www.microsynth.seqlab.de). Анализ полученных хроматограмм секвенированных последовательностей выполнялся при помощи программы Chromas (technelysium.com). Вы-

равнивание последовательностей произведено в программе Mega 7.0 (Kumar et al., 2016) с помощью алгоритма Clustal (Higgins et al., 1992).

Таблица 2

Эффективность ISSR-PCR праймеров для *Pinus sylvestris*

Название ISSR-праймера	Последовательность (5'→3')	Количество амплифицированных фрагментов	
		мономорфные	всего
GR ₂₁₅	(CA) ₆ GT	2	34
UBC ₈₀₇	(AG) ₈ T	2	17
UBC ₈₁₈	(CA) ₈ G	1	16
UBC ₈₃₆	(AG) ₈ YA	3	25
X ₁₀	AGC(ACG) ₅ C	1	32
HB ₁₂	5(CAC) ₃ GC3	0	46

Результаты

При изучении 8 популяций реликтовой сосны ISSR-методом нами был получен 161 полиморфный маркерный признак, что составляет 94 % от общего количества, и 9 мономорфных. Используемые праймеры позволили выявить от 16 до 46 фрагментов (табл. 2), максимальное число выявлено в амплификации с праймером HB₁₂. Наибольшая дифференциация между популяциями *Pinus sylvestris* установлена с использованием праймеров HB₁₂, GR₂₁₅, X₁₀. Длины фрагментов ДНК варьировали от 150 до 1000 пар нуклеотидов.

Результаты исследования показывают, что выбранные праймеры для ISSR-анализа являются полиморфными и высокоэффективными в отношении вида *Pinus sylvestris*.

Количество полиморфных локусов, полученных в результате ПЦР реакции, с учетом общей выборки составило 0,94. Из 170 выявленных маркеров 5 (2,9 %) являются уникальными, так как представлены только в одной популяции, а 165 (97,1 %) – общими для всех изучаемых популяций. В популяциях Кваркенского, Грачевского, Бузулукского и Адамовского р-нов Оренбургской области выявлено по одному уникальному ISSR-маркеру, а в популяции Кувандыкского р-на выявлено два уникальных маркера. В популяциях Пономаревского, Асекеевского и Бугурусланского р-нов уникальных ISSR-маркеров не обнаружено.

Генетическое разнообразие популяции оценивалось согласно индексу Шеннона, который выявил наибольшее разнообразие в популяциях Кувандыкского (0,30 ± 0,025), Бугурусланского (0,28 ± 0,025) и Асекеевского р-нов (0,29 ±

0,026), а наименьшее – в популяции Кваркенского р-на (0,17 ± 0,022).

Кластерный анализ (UPGMA), основанный на степени сходства популяций по ISSR-маркерным признакам, выявил разделение исследуемой выборки на две генетические группы А и В. Группа В образована одним резко отличающимся от других кластером, в который вошли реликтовые сосны юго-восточной части Адамовского р-на. В группу А входят остальные популяции, которые в дальнейшем делятся на две подгруппы А1 и А2; в общей сумме исследуемая выборка делится на 9 генетических кластеров (рис. 2).

В группу А1 вошли изученные популяции лесостепной части Оренбургской области, которые сформировали 5 генетических кластеров. Первый кластер представлен популяциями, произрастающими в Бугурусланском и прилегающем к нему Бузулукском р-нах. Второй и пятый кластеры сформированы двумя различными популяциями Грачевского района, третий кластер представлен реликтовыми соснами центральной части Бузулукского бора Бузулукского р-на. В четвертый кластер вошли реликтовые сосны Пономаревского и Асекеевского р-нов, которые территориально находятся на значительном расстоянии друг от друга и на дендрограмме (рис. 2) имеют значительное генетическое расстояние внутри кластера.

Группа А2 образована реликтовыми соснами, произрастающими на территории Оренбургского Зауралья, которые делятся на 3 кластера. В первый кластер относятся сосны, произрастающие в юго-восточной части Кваркенского р-на, второй – сосны, произрастающие в центральной части Кваркенского р-на, третий – сосны, произрастающие в западной части Кваркенского

р-на и Кувандыкского р-на (Карагай-Покровский бор), которые на дендрограмме (рис. 2) имеют заметное генетическое расстояние.

Разделение общей выборки на три группы подтверждают результаты анализа главных ком-

понент. При ординации выборка распределилась не равномерно (рис. 3), а представлена тремя четко обособленными группами. В первую группу вошли популяции Пономаревского, Бугурусланского, Бузулукского и Асекеевского р-нов,

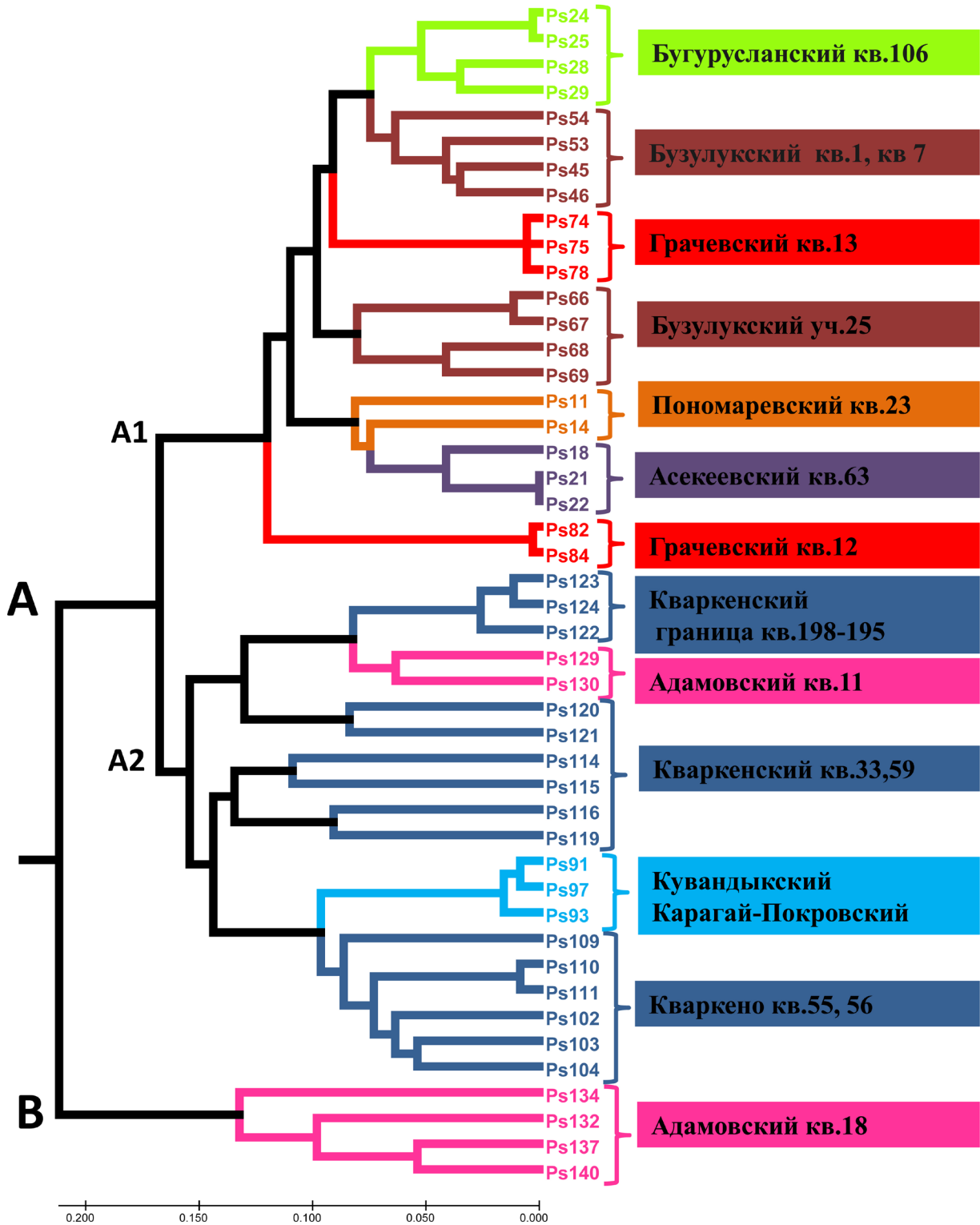


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства изученных популяций *Pinus sylvestris*, построенная на основании полиморфизма ISSR-маркеров невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA); шкала снизу – генетические расстояния.

вторая группа представлена популяциями Адамовского и Кваркенского р-нов, третья группа – популяциями Кваркенского и Кувандыкского р-нов. Популяция Кувандыкского р-на, пред-

ставленная реликтовыми соснами левобережья и правобережья реки Губерля, занимает промежуточное положение между первой и третьей популяцией.

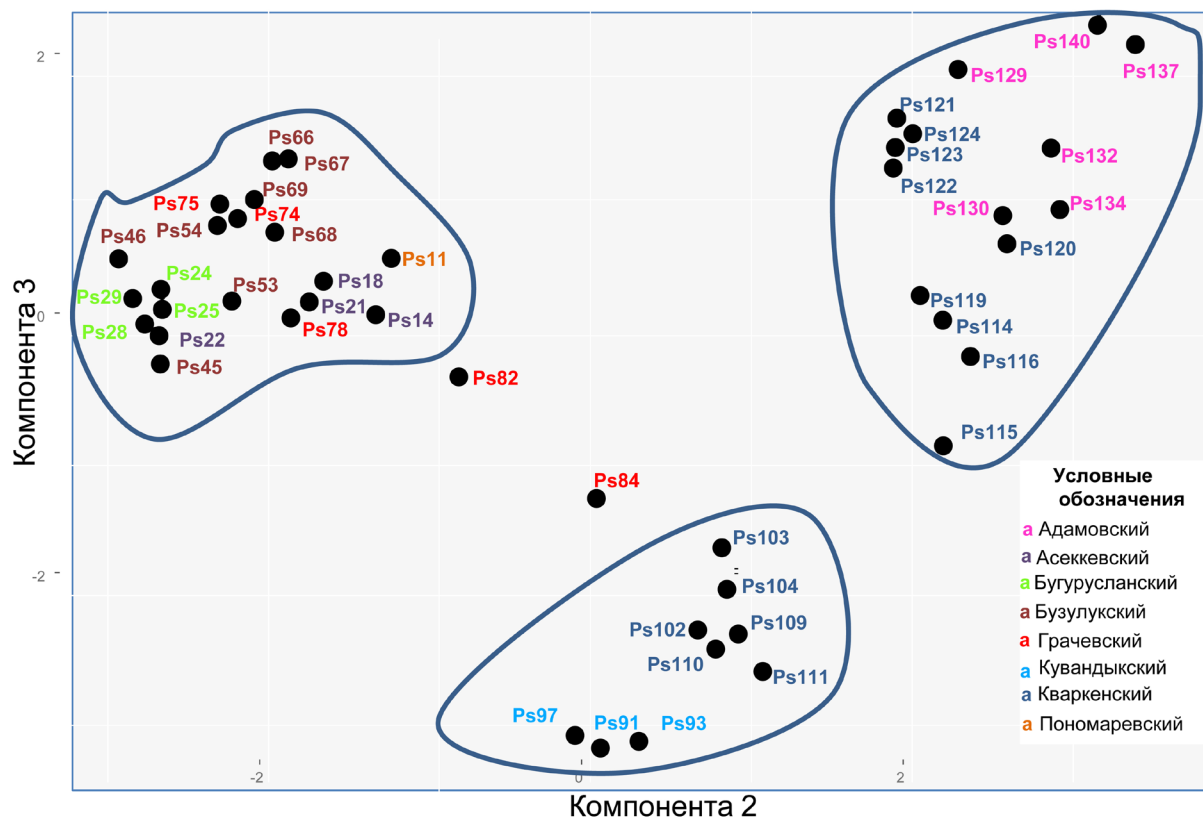


Рис. 3. Ординация изученных популяций *Pinus sylvestris* с помощью анализа главных компонент.

Для анализа нуклеотидного полиморфизма на начальном этапе исследования нами была произведена реакция амплификации ITS1, в ходе которой не получено ампликона нужного размера, однако, имела определенные отличия последовательности нуклеотидов в выборке. По причине недостоверности результатов эти данные были исключены из дальнейшего исследования.

С целью изучения генетического сходства реликтовых сосен Оренбургской области с общемировыми результатами исследования сосны обыкновенной была проведена амплификация ITS2. В настоящее время ITS2 используется в качестве молекулярного маркера для большинства высших растений (De Vere et al., 2012; Kuzmina et al., 2016).

В результате полного секвенирования ITS2 с 5.8S фрагментом рибосомальной ДНК из разных популяций *Pinus sylvestris* были получены последовательности ДНК 5 образцов длиной 332 нуклеотида. Все 5 фрагментов оказались абсо-

лютно идентичны между собой. Проверка полученных последовательностей ITS2 с помощью BLASTN 2.2.26 в базе данных GenBank NCBI также показала их 100 % идентичность сиквенсам сосны обыкновенной из Великобритании и Канады (MG216892; KX167937; KX167550; KX167551; KX167559; KX167560; AF037003). Полученные сиквенсы зарегистрированы в European Nucleotide Archive (<https://www.ebi.ac.uk/ena>) (LR588506 – LR588510).

Обсуждение

Естественные массивы *Pinus sylvestris* в пределах юго-западной границы ареала на стыке геоморфологических районов и флористических областей в пределах Оренбургской области характеризуются высоким генетическим разнообразием и подразделяются на основании ISSR-анализа на три группы в соответствии с физико-географическим районированием Оренбургской

области. Результаты исследования подтверждаются анализом главных компонент в программном комплексе «R».

В первую группу входят реликтовые сосны Восточно-Европейской равнины на участках лесостепной зоны Заволжско-Предуральской возвышенной провинции и степной зоны Общесыртовско-Предуральской возвышенной провинции. Вторую и третью группу составляют реликтовые сосны Уральской горной страны (рис. 4). Однако выявленная четкая дифференциация между группами, по-нашему мнению, связана с изолированностью и удаленным расположением на ограниченной территории в регионе с высокой интенсивностью хозяйственного использования на протяжении многих десятилетий. Вторую группу образуют реликтовые сосны Саринско-Губерлинского округа и северо-западной части Верхнесуудукского плакорно-останцового района. Третья группа образована соснами Аландского ложнолесостепного подрайона и Жарлинского плакорно-останцового района. Выявлены филогенетические сходства популяции сосны обыкновенной Кувандыкского р-на с первой и третьей группой, в связи с чем данная популяция занимает промежуточное положение при оценке главных компонент. Частоты аллелей равновесных популяций, входящих в одну группу характеризуются выравненным распределением, что в большей степени характерно для реликтовых популяций сосен Асекеевского и Пономаревского р-нов, а также для реликтовых сосен разных участков Кваркенского р-на (Аландский и Адрианопольский боры), Бугурусланского р-на и северо-восточной окраины Бузулукского бора. Присутствие в территориально близких массивах реликтовых сосен большого числа мономорфных фрагментов свидетельствует о генетической однородности и формировании единой популяции.

Массив реликтовых сосен в южной части Адамовского р-на характеризуется наличием уникальных ISSR-маркеров, на основе которых сосны данного массива филогенетически обособлены в отдельную группу.

Доля полиморфных локусов является количественным показателем генетического разнообразия популяции. Расчет индекса Шеннона позволил выявить наибольшее генетическое разнообразие в популяциях сосны обыкновенной в Кувандыкском р-не на участке Саринского сыртово-плакорного района, где скалисто-лесное урочище в ущельеобразной долине реки Губер-

ли образуют Карагай-Покровский бор. Одним из факторов, способствующих обособленности данной популяции сосен, является значительная географическая удаленность от других массивов (более 250 км), антропогенная изоляция территории, уникальные ландшафтно-геоморфологические условия произрастания. Карагай-Покровский бор является реликтом ледникового периода, когда массивы сосново-березовых и сосново-лиственных лесов были широко распространены среди степей (Ryabinina, 1998).

Высокое генетическое разнообразие свидетельствует об устойчивости и значительном адаптационном потенциале популяции сосны обыкновенной на территории Оренбургской области. Однако ряд факторов, способствующих деградации лесных массивов, приводит к сокращению ареалов, фрагментации, снижению общей и эффективной численности и плотности популяций, что неминуемо ведет к генетическому обеднению популяций и снижению ее устойчивости.

В связи с этим целесообразно рекомендовать Министерству природных ресурсов, экологии и имущественных отношений Оренбургской области, Министерству лесного и охотничьего хозяйства Оренбургской области, управлению национального парка «Бузулукский бор» включить в сеть ООПТ в качестве лесных генетических резерватов территории, на которых расположены реликтовые популяции *Pinus sylvestris*, в частности, территории Грачевского, Пономаревского, Асекеевского, Кваркенского, Адамовского, Бугурусланского р-нов, а также территории лесничеств, примыкающих к Бузулукскому бору.

Учитывая значимость лесовосстановительных работ на территории Оренбургской области, рекомендуется использовать в качестве посевного материала высоко адаптивные к региональным почвенно-климатическим условиям семена именно из популяций реликтовых сосен.

Благодарности

Авторский коллектив выражает благодарность за оказанную помощь в организации и проведении полевых исследований сотрудников лесной отрасли Оренбургской области, а также Министерству науки и высшего образования РФ, Германской службе академических обменов DAAD за финансовую и информационную поддержку в рамках стипендиальной программы Michael Lomonosov Programm-Linie B, 2018 (57391664).

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Chibilyov A. A., Chibilyov Ant. A.** 2012. Natural zoning of the Urals, taking into account latitudinal zonality, altitudinal zonality and vertical differentiation of landscapes. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN* [Izvestia of RAS SamSC] 1(6): 1660–1665 [In Russian]. (**Чибилев А. А., Чибилев Ант. А.** Природное районирование Урала с учетом широтной зональности, высотной поясности и вертикальной дифференциации ландшафтов // Известия Самарского научного центра РАН, 2012. Т. 14, вып. 1. С. 1660–1665).
- Chibilyov A. A.** 2015. Physical and geographical zoning of the Southern Urals as the basis for the formation of the ecological framework of the region. In: *Stepi Severnoy Yevrazii: materialy sedmogo mezhdunarodnogo simpoziuma* [Physical and geographical zoning of the Southern Urals as the basis for the formation of the ecological framework of the region]. Orenburg, 916–919 pp. [In Russian]. (**Чибилев А. А.** Физико-географическое районирование Южного Урала как основа для формирования экологического каркаса региона // Степи Северной Евразии: материалы VII междунар. симпозиума. Оренбург, 2015. С. 916–919).
- Farjon A.** 2001. *Conifers*. Royal Botanic Gardens Kew, London, 309 pp.
- Ganopoulos J., Tsaballa A., Xanthopoulou A., Madesis P., Tsaftaris A.** 2013. Cultivar Identification by High-Resolution-Melting (HRM) Analysis Using Gene-Based SNP Markers. *Plant. Mol. Biol. Report.* 31(3): 763–768. DOI: 10.1007/s11105-012-0538
- Krutovskiy K. V.** 2006. From population genetics to population genomics of forest tree species: an integrated population-genomic approach. *Genetika* [Russian Journal of Genetics] 42(10): 1304–1318 [In Russian]. (**Крутовский К. В.** От популяционной генетики к популяционной геномике лесных древесных видов: интегрированный популяционно-геномный подход // Генетика, 2006. Т. 42(10). С. 1304–1318).
- Kumar S., Stecher G., Tamura K.** 2016. MEGA 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33: 1870–1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054
- Kuzmina M. L., Braukmann T. W. A., Fazekas A. J., Catling P. M., Newmaster S. G., Percy D. M., Fenneman E., Lauron-Moreau A., Ford B., Gillespie L., Subramanyam R., Whitton J., Jennings L., Metsger D., Warne C. P., Brown A., Sears E., Dewaard J. R., Zakharov E. V., Hebert P. D. N.** 2017. Using herbarium-derived DNAs to assemble a large-scale DNA barcode library for the vascular plants of Canada. *Appl. Plant. Sci.* 5(12). (22 December 2017). DOI: 10.3732/apps.1700079
- Milyutin L. I., Kuzmin S. R., Kuzmina N. A., Novikova T. N.** 2010. About the intraspecific taxonomy *Pinus sylvestris* (Pinaceae). *Bot. Zhurn. (Moscow & St. Petersburg)* 95(12): 1755–1762 [In Russian]. (**Милютин Л. И. Кузьмин С. Р., Кузьмина Н. А., Новикова Т. Н.** О внутривидовой систематике *Pinus sylvestris* (Pinaceae) // Бот. журн., 2010. Т. 95, № 12. С. 1755–1762).
- Milyutin L. I.** 1991. Features of marginal populations of woody plants. In: *Ekologiya populyatsiy: Sbornik nauchnykh statey* [Population ecology: collection of scientific articles]. Nauka, Moscow, 86–97 pp. [In Russian]. (**Милютин Л. И.** Особенности краевых популяций древесных растений // Экология популяций: Сборник науч. ст. М.: Наука, 1991. С. 86–97).
- Pavlov D. S., Striganova B. R., Bukvareva Ye. N., Dgebuadze Yu. Yu.** 2009. *Sokhraneniye biologicheskogo raznoobraziya kak usloviye ustoychivogo razvitiya* [Conservation of biological diversity as a condition for sustainable development]. “Типография LEVKO”, Institut ustoychivogo razvitiya, Moscow, 84 pp. [In Russian]. (**Павлов Д. С., Стриганова Б. Р., Букварева Е. Н., Дгебуадзе Ю. Ю.** Сохранение биологического разнообразия как условие устойчивого развития. М.: ООО «Типография ЛЕВКО», Институт устойчивого развития, 2009. 84 с.).
- Sedel'nikova T. S., Pimenov A. B.** 2010. Analysis of the cytogenetic characteristics of marsh and dry populations of Pinaceae species. In: *Faktory eksperimentalnoy evolutsii organizmov* [Factors of experimental evolution of organisms: a collection of scientific papers]. Vol. 8. Kiev, 126–131 pp. [In Russian]. (**Седельникова Т. С., Пименов А. Б.** Анализ цитогенетических характеристик болотных и суходольных популяций видов Pinaceae // Факторы экспериментальной эволюции организмов: сборник научных трудов. Т. 8. Киев, 2010. С. 126–131).
- Rogers S. O., Zhao L. MA Y., Catranis C. M., Starmer W. T., Castello J. D.** 2005. *Recommendations for elimination of contaminants and authentication of isolates from ancient ice cores*. Princeton University Press, New Jersey, 5–21 pp.
- Rogers By S. O., Kaya Z.** 2006. DNA From Ancient Cedar Wood From King Midas' Tomb, Turkey, and Al-Aksa Mosque, Israel. *Silvae Genetica* 55(2): 54–62. DOI: 10.1515/sg-2006-0009
- Ryabinina Z. N.** 1998. *Konspekt flory Orenburgskoy oblasti* [Summary of the flora of the Orenburg region]. Institut stepi, Ekaterinburg, 163 pp. [In Russian]. (**Рябинина З. Н.** Конспект флоры Оренбургской области. Екатеринбург: Ин-т степи УрО РАН, 1998. 163 с.).
- Ryabinina Z. N., Knyazev M. S.** 2009. *Opredelitel sosudistykh rasteniy Orenburgskoy oblasti* [The determinant of vascular plants of the Orenburg region]. Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, Moscow, 758 pp. [In Russian]. (**Рябинина З. Н., Князев М. С.** Определитель сосудистых растений Оренбургской области. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 758 с.).

Sannikov S. N., Petrova I. V. 2003. *Differentsiatsiya populyatsiy sosny obyknovennoy* [Differentiation of pine populations]. UrORAN, Ekaterinburg, 247 pp. [In Russian]. (Санников С. Н., Петрова И. В. Дифференциация популяций сосны обыкновенной. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. 247 с.).

Steinke D., De Vere N., Rich T. C. G., Ford C. R., Trinder S. A., Long Ch., Moore C. W., Satterthwaite D., Davies H., Allainguillaume J., Ronca S., Tatarinova T., Garbett H., Walker K., Wilkinson M. J. 2012. DNA Barcoding the Native Flowering Plants and Conifers of Wales. *Plos One* 7(6). DOI: 10.1371/journal.pone.0037945

Wachowiak W., Balk P. A., Savolainen O. 2009. Search for nucleotide diversity patterns of local adaptation in dehydrins and other cold-related candidate genes in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Genetics & Genomes* 5(1): 117–132. DOI: 10.1007/s11295-008-0188-3