

УДК 575.2:575.22:574.3
AGRI: F30

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

©**Боронникова С. В.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, д-р биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Календарь Р. Н.**, ORCID: 0000-0003-3986-2460, канд. биол. наук,
Республиканское государственное предприятие «Национальный центр биотехнологии»
г. Астана, Казахстан, ruslan.kalendar@mail.ru

©**Пришневская Я. В.**, ORCID: 0000-0003-1513-2682,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, yana_prishnivskaya@mail.ru

©**Васильева Ю. С.**, ORCID: 0000-0002-2255-2434, канд. биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, Yulianechaeva@mail.ru

©**Нассонова Е. С.**, ORCID: 0000-0002-7589-4913,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, lena.nassonova@mail.ru

©**Красильников В. П.**, ORCID: 0000-0003-0776-0339,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, trait969@gmail.com

MOLECULAR-GENETIC IDENTIFICATION IN FORESTRY WITH USING OF GENOMIC TECHNOLOGIES

©**Boronnikova S.**, ORCID: 0000-0002-5498-8160, Dr. habil.,
Perm State University, Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

©**Kalendar R.**, ORCID: 0000-0003-3986-2460, Ph.D.,
RSE "National Center for Biotechnology",
Astana, Kazakhstan, ruslan.kalendar@mail.ru

©**Prishnivskaya Ya.**, ORCID: 0000-0003-1513-2682, Perm State University,
Perm, Russia, yana_prishnivskaya@mail.ru

©**Vasileva Yu.**, ORCID: 0000-0002-2255-2434, Ph.D., Perm State University,
Perm, Russia, Yulianechaeva@mail.ru

©**Nassonova E.**, ORCID: 0000-0002-7589-4913, Perm State University,
Perm, Russia, lena.nassonova@mail.ru

©**Krasilnikov V.**, ORCID: 0000-0003-0776-0339, Perm State University,
Perm, Russia, trait969@gmail.com

Аннотация. Проведены молекулярно-генетический анализ и идентификация шести популяций *Pinus sylvestris* L., которые расположены на востоке Русской равнины с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК. У шести изученных популяций *P. sylvestris* выявлены 135 ISSR-PCR маркеров, из которых 128 были полиморфными ($P_{95}=0,948$). В изученных популяциях выявлено 9 редких ISSR-PCR маркеров. Выявлены идентификационные мономорфные видовые и полиморфные ISSR-PCR маркеры, а также их сочетания для молекулярно-генетической идентификации изученных популяций. Составлены молекулярно-генетические формулы и штрихкоды шести популяций *P. sylvestris*.

Abstract. Molecular-genetic analysis and identification of six populations of *Pinus sylvestris* L. located in East of Russian plain with using of ISSR-method DNA polymorphism analysis was held. 135 ISSP-PCR markers of six researched *P. sylvestris* populations was identified, 128 of which were polymorphic ($P_{95}= 0.948$). In researched populations 9 rare ISSR-PCR markers were identified. Identification monomorphic species and polymorphic ISSR-PCR markers and their combinations for molecular-genetic identification of researched populations were detected. Molecular-genetic formulas and barcodes of six populations of *P. sylvestris* were prepared.

Ключевые слова: молекулярно-генетическая идентификация, ISSR-PCR маркер, штрих-код, *P. sylvestris*.

Keywords: Molecular-genetic identification, ISSR-PCR marker, barcode, *P. sylvestris*.

Популяции древесных растений занимают большие площади и, как правило, генотипы их растений более однотипны при сопоставлении с популяциями травянистых растений. Древесные растения имеют большую продолжительность жизни. Эти особенности древесных растений необходимо учитывать при характеристике генофондов, в том числе при описании их специфичности. Несмотря на то, что лес — возобновляемый ресурс, количество вырубок превышает количество новых посадок (возобновлений) [1]. Древесина является высококачественным энергетическим и трудно заменимым материалом, используемым в строительстве, мебельной промышленности и других сферах деятельности [2, с. 115-119].

В современный период широкое распространение получило такое преступление, как незаконная рубка лесных насаждений (1). Неконтролируемая вырубка лесов приводит к уничтожению среды обитания живых организмов, эрозии почв, а в глобальном масштабе — к изменению климата (2). Согласно данным Министерства природных ресурсов и экологии РФ ущерб от незаконных рубок в 2014 г. составил 14 млрд руб. [3].

Существуют разнообразные технологии, направленные на идентификацию места происхождения древесины после ее вырубки [4].

Материалы и методы исследований

Молекулярно-генетическая идентификация проведена у шести популяций *P. sylvestris*, которые расположены на востоке Русской равнины: Ps1 — около п. Мордино Республики Коми, Ps2 — около п. Визинга Республики Коми, Ps3 — из Шабалинского лесничества Кировской области, Ps4 — из Ежихинского лесничества Кировской области, Ps5 — из Даровского лесничества, Кировской области; Ps6 — из Юрьянского лесничества, Кировской области. Молекулярно-генетический анализ и выявление идентификационных молекулярных маркеров проводилось по результатам ПЦР с пробами ДНК, выделенными как из хвои, так и из древесины.

Для проведения исследований собраны свежие вегетативные почки латеральных побегов индивидуально с 46 деревьев каждой популяции расположенных на расстоянии не менее 100 м. друг от друга. Тотальная ДНК выделена из хвои 276 деревьев с использованием модифицированной нами методики выделения ДНК С. О. Роджерса и Э. Дж. Бендича в котором в качестве сорбента использовался PVPP, то есть поливинилполипирролидон [5, с. 69-76].

Качество и характеристики ДНК определяли на приборе SpectrofotometrTM NanoDrop 2000 («Thermo scientific», USA). Молекулярно-генетическое анализ был проведен с применением ISSR (Inter Simple Sequence Repeats [7])-метода полиморфизма ДНК. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала: 2 единицы *Taq*-полимеразы; 2,5 мкл 10x буфера + MgCl₂ («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 0,25 mM dNTP («Fermentas», Литва); 5 мкл ДНК. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) с пятью ISSR-праймерами, эффективными для *P. sylvestris*: ISSR-1 ((AC)₈T), CR-212 ((CT)₈TG), CR-215 ((CA)₆GT), M27 ((GA)₈C), X10 ((AGC)₆C).

В процессе ПЦР пробы ДНК амплифицировались по общепринятой для ISSR-метода программе: начальная денатурация 94 С, 2 мин.; первые 5 циклов 94 С, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 С, 10 сек.; в дальнейших 35 циклах 94 С, 5 сек.; t° отжига, 5 сек.; 72 °С, 5 сек. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров изменялась от 54°C до 64°C. Для определения чистоты реактивов в качестве К- в реакционную смесь добавляли взамен ДНК 5 мкл деионизированной воды. Ампликоны разделили электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Для определения длин ампликонов выбрали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder, (ООО «СибЭнзим-М», Москва).

Фотографирование и подсчет длин ампликонов проводили с помощью системы геле-документации GelDoc, а также программы Quantity One («Bio-Rad», USA). Проведено молекулярно-генетическое тестирование 135 ISSR-PCR маркеров у 276 деревьев *P. sylvestris*, в матрице рассмотрены 37 260 позиций.

Генетическая идентификация была проведена по методике, предложенной С. В. Боронниковой с соавтором на примере природных популяций двух видов *Populus tremula* L. и *Populus balsamifera* L. [6].

Результаты и их обсуждение

При молекулярно-генетическом анализе *P. sylvestris* выявлено 135 ISSR-PCR маркеров, из которых 128 были полиморфными (P₉₅=0.948). Число ISSR-PCR маркеров *P. sylvestris* варьировало в зависимости от праймера от 13 (праймер M27) до 31 (праймер X10) а их размеры — от 150 до 1650 п.н. В среднем один ISSR-праймер инициировал у *P. sylvestris* синтез 16,7 ISSR-PCR маркеров. Число полиморфных маркеров в общей выборке *P. sylvestris* варьировало от 23 до 28, а доля полиморфных локусов в зависимости от ISSR-праймера колебалась от 0.903 до 1.000 (Таблица 1).

Для характеристики генетической структуры популяций важны редкие, то есть встречающиеся с частотой менее 5%, маркеры. В изученных популяциях *P. sylvestris* выявлено 9 редких ISSR-PCR маркеров, из которых в популяциях Ps1, Ps2 и Ps6 по одному ISSR-PCR маркеру, в популяциях Ps3 и Ps4 — по 3 уникальных ISSR-PCR маркеров, а в популяции Ps5 уникальных ISSR-PCR маркеров не обнаружено. Для молекулярно-генетической идентификации отобраны наиболее информативные ISSR-праймеры, с помощью которых выявлены видовые и полиморфные ISSR-маркеры и проведен отбор идентификационных молекулярных маркеров, а также определены их сочетания для идентификации популяций (Таблица 2).

Таблица 1.
 ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-PCR МАРКЕРОВ В ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЯХ *P. sylvestris*

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина маркеров, пн	Число полиморфных ISSR-PCR маркеров в популяциях						На общую выборку	
			Ps1	Ps2	Ps3	Ps4	Ps5	Ps6	все-го	поли-морф-ных
ISSR-1	(AC) ₈ T	220-1350	11 (0,733)	12 (0,857)	9 (0,563)	8 (0,533)	18 (0,857)	15 (0,714)	24	23 (0,958)
CR-212	(CT) ₈ TG	230-1550	12 (0,706)	12 (0,750)	6 (0,462)	8 (0,500)	21 (1,000)	20 (0,952)	27	26 (0,963)
CR-215	(CA) ₆ GT	150-1200	18 (0,857)	18 (0,900)	8 (0,533)	8 (0,533)	17 (0,850)	14 (0,700)	26	26 (1,000)
M27	(GA) ₈ C	150-1020	11 (0,647)	9 (0,642)	7 (0,438)	6 (0,400)	16 (0,727)	15 (0,682)	27	25 (0,926)
X10	(AGC) ₆ C	210-1650	13 (0,722)	21 (0,913)	9 (0,529)	10 (0,588)	19 (0,826)	22 (0,917)	31	28 (0,903)
Всего ISSR-маркеров (в скобках дана их частота)			65 (0,739)	72 (0,827)	39 (0,506)	40 (0,513)	90 (0,841)	86 (0,796)	135	128 (0,948)

Примечание: Ps1 – популяция, расположенная около п. Мордино Республики Коми, Ps2 – популяция, расположенная около п. Визинга Республики Коми, Ps3 – популяция, из Шабалинского лесничества Кировской области, Ps4 – популяция, из Ежихинского лесничества Кировской области, Ps5 – из Даровского лесничества, Кировской области; Ps6 – из Юрьянского лесничества, Кировской области

Таблица 2.
 ХАРАКТЕРИСТИКА ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ ISSR-PCR МАРКЕРОВ ПОПУЛЯЦИЙ *P. sylvestris*

Обозначение праймера	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Размеры ISSR-PCR маркеров, п.н.	ISSR-PCR маркеры, избранные для идентификации		
Мономорфные ISSR- PCR маркеры					
CR-212	(CT) ₈ TG	1550-2530	PSv670 _{CR212}	PSv450 _{CR212}	PSv390 _{CR212}
M27	(GA) ₈ C	1020-150	PSv500 _{M27}	PSv460 _{M27}	
X10	(AGC) ₆ C	1650-210	PSv440 _{X10}		
Полиморфные ISSR-PCR маркеры					
ISSR-1	(AC) ₈ T	1350-220	Ps6 _p 1115 _{IS1}	Ps1p930 _{IS1}	Ps5 _p 800 _{IS1}
CR-212	(CT) ₈ TG	1550-230	Ps6 _p 880 _{CR212}	Ps6 _p 420 _{CR212}	Ps4p290 _{CR212}
CR-215	(CA) ₆ GT	1200-150	Ps1p260 _{CR212}	Ps4p250 _{CR212}	
M27	(GA) ₈ C	1020-150	Ps3p1400 _{CR215}	Ps5 _p 1250 _{CR215}	Ps3p1200 _{CR215}
			Ps1p210 _{M27}	Ps1p180 _{M27}	Ps1p170 _{M27}
			Ps2p350 _{M27}		
X10	(AGC) ₆ C	1650-210	Ps4p1650 _{X10}	Ps4p900 _{X10}	Ps6 _p 770 _{X10}
			Ps6 _p 720 _{X10}	Ps3p410 _{X10}	Ps5 _p 300 _{X10}
			Ps2p250 _{X10}	Ps5 _p 230 _{X10}	
			Ps2p200 _{X10}		

Примечание: PSv – ISSR-PCR маркеры, характерные для всех популяций; Ps1p, Ps2p, Ps3p и Ps4p – полиморфные ISSR-PCR маркеры, характерные для отдельных популяций.

Молекулярные маркеры, избранные для идентификации четырех популяций *P. sylvestris*, представлены в виде молекулярно-генетической формулы, при составлении которой использовались так называемые «видовые» и «полиморфные» ISSR-PCR маркеры. «Родовые» ISSR-PCR маркеры использованы не были, так как для их обнаружения необходимо исследовать еще один вид рода *Pinus*. Мономорфные ISSR-PCR маркеры, характерные для вида, обозначены как PSv, а полиморфные как: Ps1p – для популяции Ps1, Ps2p – для популяции Ps2, Ps3p – для популяции Ps3, Ps4p – для популяции Ps4. Основная характеристика молекулярного маркера (его длина) указана большими буквами после указания типа маркера — Ps1p260_{CR212}. В молекулярно-генетической формуле приведены тип и номер праймера нижним индексом. Так, молекулярный маркер Ps3p1200_{CR215} выявлен ISSR-методом с использованием праймера CR215. В случае, когда праймер возможно записать в виде короткой формулы как при ISSR-анализе, запись молекулярного маркера можно представить в следующем виде Ps3p1200_{(CA)₆GT}. Данная форма записи молекулярного маркера является самой информативной.

Таким образом, в предлагаемой записи молекулярно-генетической формулы указан вид растения, тип амплифицированного ISSR-PCR маркера, его размер и дана характеристика исследуемой части генома посредством указания метода анализа полиморфизма ДНК и номера или последовательности праймера.

Для изученных популяций *P. sylvestris* установлены шесть видовых ISSR-PCR маркеров, выявленные у всех изученных популяций: PSv₆₇₀_{CR212}, PSv_{500M2}, PSv_{460M27}, PSv₄₅₀_{CR212}, PSv₄₄₀_{X10}, PSv₃₉₀_{CR212}. На основе ISSR-спектров удалось установить идентификационные ISSR-PCR маркеры или их сочетания для популяций, с достаточно высокой частотой встречаемости в популяции. Для популяции Ps1 идентификационными маркерами являются Ps1p₉₃₀_{IS1}, Ps1p₂₆₀_{CR212}, Ps1p₂₁₀_{M27}, Ps1p₁₈₀_{M27}, Ps1p₁₇₀_{M27}; для популяции Ps2 — Ps2p₃₅₀_{M27} Ps2p₂₅₀_{X10} Ps2p₂₀₀_{X10}; для Ps3 — Ps3p₁₄₀₀_{CR215} Ps3p₁₂₀₀_{CR215} Ps3p₄₁₀_{X10}; для Ps4 — Ps4p₁₆₅₀_{X10} Ps4p₉₀₀_{X10} Ps4p₂₉₀_{CR212} Ps4p₂₅₀_{CR212}; для популяции Ps5 — Ps5_p₁₂₅₀_{CR215}; Ps5_p₈₀₀_{IS1}; Ps5_p₃₀₀_{X10}; Ps5_p₂₃₀_{X10}; для популяции Ps5 — Ps6_p₁₁₁₅_{IS1}; Ps6_p₈₈₀_{CR212}; Ps6_p₇₇₀_{X10}; Ps6_p₇₂₀_{X10}; Ps6_p₄₂₀_{CR212}. На основании полученных данных были составлены молекулярно-генетические формулы для изученных популяций *P. sylvestris* (Таблица 3).

Таблица 3.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФОРМУЛЫ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ *P. sylvestris*

Ps1	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps1p ₉₃₀ _{IS1} Ps1p ₂₆₀ _{CR212} Ps1p ₂₁₀ _{M27} Ps1p ₁₈₀ _{M27} Ps1p ₁₇₀ _{M27}
Ps2	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps2p ₃₅₀ _{M27} Ps2p ₂₅₀ _{X10} Ps2p ₂₀₀ _{X10}
Ps3	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps3p ₁₄₀₀ _{CR215} Ps3p ₁₂₀₀ _{CR215} Ps3p ₄₁₀ _{X10}
Ps4	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps4p ₁₆₅₀ _{X10} Ps4p ₉₀₀ _{X10} Ps4p ₂₉₀ _{CR212} Ps4p ₂₅₀ _{CR212}
Ps5	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps5 _p ₁₂₅₀ _{CR215} ; Ps5 _p ₈₀₀ _{IS1} ; Ps5 _p ₃₀₀ _{X10} ; Ps5 _p ₂₃₀ _{X10}
Ps6	vid	PSv ₆₇₀ _{CR212} PSv ₅₀₀ _{M27} PSv ₄₆₀ _{M27} PSv ₄₅₀ _{CR212} PSv ₄₄₀ _{X10} Sv ₃₉₀ _{CR212}
	polimorph	Ps6 _p ₁₁₁₅ _{IS1} ; Ps6 _p ₈₈₀ _{CR212} ; Ps6 _p ₇₇₀ _{X10} ; Ps6 _p ₇₂₀ _{X10} ; Ps6 _p ₄₂₀ _{CR212}

Примечание: PSv – ISSR-PCR маркеры, характерные для всех популяций; Ps1p, Ps2p, Ps3p, Ps4p, Ps5p и Ps6p – полиморфные ISSR-PCR маркеры, характерные для отдельной популяции.

На основании полученных молекулярно-генетических формул рекомендуется составлять штрихкоды [7]. Как молекулярно-генетическая формула, так и штрихкод позволят идентифицировать принадлежность особей не только к роду и виду, но и к определенной популяции.

Родовые маркеры предлагается обозначить толстой линией, видовые — линией средней толщины, а полиморфные маркеры — тонкой линией. Для штрихкода предлагается использовать от 9 до 12 штрихов. ISSR-PCR маркеры в штрихкоде располагаются в зависимости от их длины от большего к меньшему (Рисунок).

<i>Маркер мол. массы, п.н.</i>	<i>Штрихкод</i>	<i>№ ISSR-PCR маркера</i>	<i>Обозначение маркера</i>
1500	_____	1	Ps3p1400CR215
	_____	2	Ps3p1200CR215
1000			
900			
800			
700	_____	3	PSv670CR212
600			
	_____	4	PSv500M27
500	_____	5	PSv460M27
	_____	6	PSv440X10
	_____	7	
	_____	8	Ps3p410X10
400	_____	9	PSv390CR212

Рисунок. Штрих-код популяции Ps3, расположенной в Шабалинском лесничестве Кировской области.

Заключение

Таким образом, в основу методики молекулярно-генетической идентификации популяций заложен молекулярный анализ высоко полиморфных областей геномов изучаемых видов. Молекулярно-генетическая идентификация популяций включает в себя молекулярно-генетический анализ на основании полиморфизма ISSR-PCR маркеров, выявление идентификационных маркеров, редких и уникальных аллелей, составление для каждой популяции молекулярно-генетической формулы и штрихкода.

Источники:

- (1). Статья 260 УК РФ, в ред. Федерального закона от 04.12.2006. № 201-ФЗ.
- (2). Основные положения по лесовосстановлению и лесоразведению в лесном фонде Российской Федерации // Утверждены приказом Федеральной службы лесного хозяйства России от 27 декабря 1993. № 344.

Sources:

- (1). Article 260 of the Criminal Code, in red. Federal Law of 04.12.2006. No 201-FZ.
- (2). Main provisions on reforestation and afforestation in the forest fund of the Russian Federation. Approved by Order of the Federal Forest Service of Russia of December 27, 1993. No. 344.

Список литературы:

1. Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Кузнецова Т. Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. 312 с.
2. Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края. Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т. 2013. 223 с.
3. Клейнхоф И. А. Глобальные аспекты развития лесного сектора экономики // Лесной вестник. 2008. №5. С. 115-119.
4. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1. N 19. P. 69-76.
5. Zietkiewicz E. Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. V. 20. P. 176-183.
6. Боронникова С. В., Календарь Р. Н. Использование IRAP-метода для анализа генетической изменчивости популяций ресурсных и редких видов растений // Генетика. 2010. Т. 46. №1 С. 44-50.
7. Пат. 2012119341 Российская Федерация А01Н1/00. Способ молекулярно-генетической идентификации популяций древесных видов растений / Боронникова С.В., Бобошина И. В., заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» №2012119341; заявл.11.05.2012; опубл. 10.02.2014.

References:

1. Vetchinnikova, L. V., Titov, A. F., & Kuznetsova, T. Yu. (2013). Karelian birch: biological features, resource dynamics and reproduction. Petrozavodsk: *Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences*, 312.
2. Boronnikova, S. V. (2013). Molecular genetic analysis and assessment of the state of gene pools of resource species of plants in the Perm Krai. Perm: *Perm. state. nat. Issled. un-t*. 223.
3. Kleinhof, I. A. (2008). Global aspects of the development of the forest sector of the economy. *Forest Herald*, (5). 115-119.
4. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram quantities of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*, 1 (19). 69-76.
5. Zietkiewicz, E. Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, (20). 176-183.
6. Boronnikova, S. V., & Calendar, R. N. (2010). Using the IRAP-method for analysis of genetic variability of populations of resource and rare plant species. *Genetika*, 46 (1). 44-50.

7. Pat. 2012119341 Russian Federation A01H1/00. Method for molecular genetic identification of populations of woody plant species. Boronnikova, S. V., & Boboshina, I. V., applicant and patent holder Federal State Budget Educational Institution of Higher Professional Education "Perm State National Research University" №2012119341; Application 11.05.2012; publ. 10/02/2014.

*Работа поступила
в редакцию 15.06.2018 г.*

*Принята к публикации
18.06.2018 г.*

Ссылка для цитирования:

Боронникова С. В., Календарь Р. Н., Пришнивская Я. В., Васильева Ю. С., Нассонова Е. С., Красильников В. П. Молекулярно-генетическая идентификация в лесном хозяйстве с использованием геномных технологий // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №7. С. 26-33. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/boronnikova-sv> (дата обращения 15.07.2018).

Cite as (APA):

Boronnikova, S., Kalendar, R., Prishnivskaya, Ya., Vasileva, Yu., Nasonova, E., & Krasilnikov, V. (2018). Molecular-genetic identification in forestry with using of genomic technologies. *Bulletin of Science and Practice*, 4(7), 26-33.