

УДК 575.174.015.3:582.475.2  
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/58/03

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L., ОБЛАДАЮЩИХ СМОЛЯНЫМИ КИСЛОТАМИ С ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

©Сбоева Я. В., ORCID: 0000-0003-1513-2682, Пермский государственный национальный  
исследовательский университет, г. Пермь, Россия, yana\_prishnivskaya@mail.ru

©Пыстогова Н. А., ORCID: 0000-0003-4420-880X, Пермский государственный национальный  
исследовательский университет, г. Пермь, Россия, n.pystogova9@gmail.com

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

## MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF FOUR POPULATIONS OF *PINUS SYLVESTRIS* L., WITH RESIN ACIDS WITH ANTI-MICROBIAL ACTIVITY

©Sboeva Ya., ORCID: 0000-0003-1513-2682, Perm State University,  
Perm, Russia, yana\_prishnivskaya@mail.ru

©Pystogova N., ORCID: 0000-0003-4420-880X, Perm State University,  
Perm, Russia, n.pystogova9@gmail.com

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

*Аннотация.* У четырех изученных популяций сосны обыкновенной Пермского края выделено 74 ISSR-PCR маркера, из которых 67 ( $P_{95}=0,905$ ) оказались полиморфными. Изученные популяции характеризуются высокими показателями генетического разнообразия ( $P_{95}=0,905$ ;  $H_E=0,187$ ;  $n_e=1,402$ ;  $R=12$ ). Установлено, что среди изученных 4 популяций *P. sylvestris* наибольшим генетическим разнообразием обладает популяция из Гаинского лесничества ( $P_{95}=0,842$ ;  $H_E=0,212$ ;  $n_e=1,358$ ;  $R=1$ ), а наименьшим — популяция из Пермского лесничества ( $P_{95}=0,800$ ;  $H_E=0,173$ ;  $n_e=1,282$ ;  $R=1$ ). Сравнительный анализ литературных и полученных данных показал, что показатели генетического разнообразия изученных популяций сосны обыкновенной Пермского края имеют средние для вида значения ( $P_{95}=0,905$ ;  $H_E=0,187$ ;  $n_a=1,905$ ;  $n_e=1,402$ ).

*Abstract.* 74 ISSR-PCR markers were isolated in four studied populations of Scots pine in the Perm Territory, of which 67 ( $P_{95}=0.905$ ) were polymorphic. The studied populations are characterized by high rates of genetic diversity ( $P_{95}=0.905$ ;  $H_E=0.187$ ;  $n_e=1.402$ ;  $R=12$ ). It was found that among the studied 4 populations of *P. sylvestris*, the population from the Gainskiy forestry ( $P_{95}=0.842$ ;  $H_E=0.212$ ;  $n_e=1.358$ ;  $R=1$ ) possesses the highest genetic diversity, and the population from the Perm forestry ( $P_{95}=0.800$ ;  $H_E=0.173$ ;  $n_e=1.282$ ;  $R=1$ ). A comparative analysis of the literature and the data obtained showed that the indicators of the genetic diversity of the studied populations of Scots pine in the Perm region have average values for the species ( $P_{95}=0.905$ ;  $H_E=0.187$ ;  $n_a=1.905$ ;  $n_e=1.402$ ).

*Ключевые слова:* смоляные кислоты, терпеноиды, абсцизовая кислота, генетическое разнообразие, ISSR-PCR маркеры, *Pinus sylvestris* L.

**Keywords:** resin acids, terpenoids, abscisic acid, genetic diversity, ISSR-PCR markers, *Pinus sylvestris* L.

В настоящее время остро стоит вопрос о новых антисептических средствах [1–2], включая и биологически активные вещества природного происхождения. Они максимально полно способны усвоиться организмом, не нагружая его балластными или токсическими соединениями и не вызывая аллергических реакций; хорошо переносятся людьми различных возрастных категорий, так как имеют минимум побочных действий и противопоказаний. Наиболее перспективными для выявления биологически активных соединений являются ранее не изученные смоляные кислоты хвойных видов растений [3]. Поиск биологически активных соединений необходимо проводить в разных отделах растений, в которых нужно сравнить видовое и генетическое разнообразие таксонов, а также биологическую активность природных соединений видов, входящих в различные таксоны. Основным естественным источником получения смоляных кислот являются хвойные породы деревьев семейства *Pinaceae*, которые по количественному и качественному составу терпеновых соединений значительно превосходят все другие виды растений [4–6].

Терпеноиды (изопреноиды), являющиеся одним из самых крупных классов природных соединений, стремительно приобретают статус перспективных лекарственных средств. У терпеноидов выявлено большое разнообразие терапевтических свойств — противоопухолевых, антимикробных, противопаразитарных, спазмолитических, противовоспалительных, иммуномодулирующих, антиаллергических [7–9].

К терпеноидам относится абсцизовая кислота, которая является гормоном растений. Впервые она была обнаружена в экспериментах по поиску вещества по способности вызывать опадение листьев и коробочек хлопчатника. Первые препараты абсцизовой кислоты (АБК) были независимо выделены в 1963 г. из листьев березы Ф. Эддикоттом и Ф. Уорингом с сотрудниками [10].

Роль генетического разнообразия в синтезе смоляных кислот у сосны обыкновенной, обладающей абсцизовой кислотой с противомикробной активностью, на популяционном уровне в Пермском крае ранее не изучалась.

#### Материал и методы

В качестве объекта исследования являлись четыре популяции *Pinus sylvestris* L. (*Pinaceae*), расположенных в лесничествах: Гаинском (GN), Карагайском (KR), Пермском (UK) и Большесосновском (BS).

Для проведения исследований собраны образцы древесины 115 деревьев в четырех популяциях *P. sylvestris*. Выборки располагались на расстоянии не менее 80 км друг от друга, в каждой был взят материал с деревьев, расположенных друг от друга на расстоянии не менее 100 метров. Выделение ДНК из древесины проводили по методике Кота-Санчез [11].

Для молекулярно-генетического анализа был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)-метод анализа полиморфизма ДНК [12]. Для ПЦР использованы пять наиболее информативных ISSR-праймеров: ISSR-1, CR-212, -215, M27, X10, показавшие наибольшую эффективность с ДНК сосны обыкновенной [13]. Амплификацию проводили в амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) по типичной для ISSR-метода программе [14]: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94°C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94°C,

5 сек.;  $t^{\circ}$  отжига, 5 сек.; 72 °С, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72 °С. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 52 до 64 °С.

В качестве отрицательного ( $K^{-}$ ) контроля в реакционную смесь добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле, которые окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации Gel Doc XR (Bio-Rad, USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp+1,5+3Kb DNA Ladder; «ООО-СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы QuantityOne в системе гель-документации Gel-Doc XR (Bio-Rad, USA). Для проверки достоверности полученных ДНК-спектров опыт повторяли не менее трех раз.

Компьютерный анализ полученных данных проведен с помощью программы POPGENE 1.31 [15] и с помощью специализированного макроса GenAlEx6 [16] для MS-Excel с определением: доли полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) [17], абсолютного числа аллелей ( $n_a$ ), эффективного числа аллелей ( $n_e$ ) [18], ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) [19].

Достоверность различий между показателями генетической изменчивости рассчитывалась по критерию Стьюдента, а для  $P_{95}$  (доля полиморфных локусов) и  $H_E$  (ожидаемая гетерозиготность) применяли критерий Стьюдента с преобразованием Фишера. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием стандартных для популяционно-генетических исследований методов (STATISTICA10).

#### Результаты исследований

При молекулярно-генетическом анализе *P. sylvestris* выявлено 74 ISSR-PCR маркера, из которых 67 были полиморфными ( $P_{95}= 0,905$ ). Доля полиморфных локусов выше в популяции GN ( $P_{95}=0,842$ ), а ниже — в KR ( $P_{95}=0,679$ ). Число ISSR-PCR маркеров *P. sylvestris* варьировало в зависимости от праймера: от 13 (праймеры CR-212 и M27) до 19 (праймер CR-215), а их размеры — от 200 до 1550 п. н.

Число полиморфных маркеров в общей выборке *P. sylvestris* варьировало от 12 до 18, а доля полиморфных локусов в зависимости от ISSR-PCR праймера колебалась от 0,867 до 0,947 (Таблица 1).

Таблица 1.

#### ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-PCR МАРКЕРОВ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ *P. sylvestris* В ПЕРМСКОМ КРАЕ

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина фрагментов, пн	Число и частота полиморфных ISSR-PCR маркеров в популяциях				На общую выборку	
			GN	KR	UK	BS	P	N
ISSR-1	(AC) <sub>8</sub> T	220–1350	9(0,643)	5(0,500)	6(0,750)	6(0,750)	12(0,857)	14
CR-212	(CT) <sub>8</sub> TG	230–1044	8(0,615)	6(0,667)	9(0,818)	9(0,818)	12(0,917)	13
CR-215	(CA) <sub>6</sub> GT	200–1150	14(0,737)	13(0,813)	11(0,846)	12(0,857)	18(0,947)	19
M27	(GA) <sub>8</sub> C	200–910	10(0,769)	8(0,800)	8(0,889)	9(0,818)	12(0,923)	13
X10	(AGC) <sub>6</sub> C	200–1550	7(0,778)	6(0,600)	7(0,778)	6(0,600)	13(0,867)	15
Всего (частота)			48(0,842)	38(0,679)	40(0,800)	42(0,778)	67(0,905)	74

Примечание: GN — Гаинская, KR — Карагайская, BS — Большесосновская, UK — Юго-Камская популяции *P. sylvestris*; в скобках указана частота полиморфных фрагментов.

Наименьшая доля полиморфных локусов ( $P_{95}=0,679$ ) отмечена в популяции *KR*, а наибольшая ( $P_{95}=0,842$ ) — в *GN*. Значения данного показателя различаются недостоверно, так как критерий Стьюдента с преобразованием Фишера равен 1,072, что не превышает критический показатель  $F_{st}=1,96$ .

Для характеристики генетического разнообразия популяций важны уникальные (R), то есть встречающиеся только в одной выборке, маркеры. В изученных выборках *P. sylvestris* выявлено 12 уникальных ISSR-PCR маркеров, из которых в выборках GN, BS, UK выявлено по 1 уникальному ISSR-PCR маркеру, в выборке KR — 9 (Таблица 2).

Таблица 2.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ *P. sylvestris*

Выборка	$H_E$	$n_a$	$n_e$	R
<i>GN</i>	0,212 (0,023)	1,662 (0,476)	1,358 (0,369)	1 (0,014)
<i>KR</i>	0,187 (0,022)	1,568 (0,499)	1,309 (0,348)	9 (0,122)
<i>UK</i>	0,173 (0,022)	1,568 (0,499)	1,282 (0,333)	1 (0,014)
<i>BS</i>	0,174 (0,021)	1,595 (0,494)	1,280 (0,326)	1 (0,014)
На общую выборку	0,187 (0,022)	1,905 (0,295)	1,402 (0,308)	12 (0,162)

Примечание:  $H_E$  — ожидаемая гетерозиготность;  $n_a$  — абсолютное число аллелей на локус;  $n_e$  — эффективное число аллелей на локус (у всех вышеуказанных параметров в скобках даны стандартные отклонения); R — число редких фрагментов, в скобках указана их доля от общего числа фрагментов.

Средняя ожидаемая гетерозиготность ( $H_E$ ) на общую выборку *P. sylvestris* составила 0,187. Этот показатель наибольший в выборке *GN* ( $H_E = 0,212$ ), а наименьший ( $H_E = 0,173$ ) — в выборке *UK* (Таблица 2). Значения данного показателя генетического разнообразия популяций *GN* и *UK* сосны обыкновенной при значении критерия Стьюдента с преобразованием Фишера, равным 0,366, незначимы.

Абсолютное число аллелей ( $n_a$ ) в общей выборке равно 1,905, а эффективное число аллелей ( $n_e$ ) — 1,402. Максимальный показатель ( $n_a = 1,662$ ) отмечен в популяции *GN*, а минимальный ( $n_a = 1,568$ ) — в *KR*. Наибольшее значение эффективных аллелей ( $n_e$ ) выявлено в популяции *GN* и составило 1,358, а наименьшее — в *BS* и оказалось равным 1,280. Различия между значениями данных параметров генетического разнообразия в популяциях *GN* и *KR*, а также *GN* и *BS* являются незначимыми, так как для  $n_a$  критерий Стьюдента составил 0,14, а для  $n_e$  — 0,16, что не превышает  $t_{st} = 1,96$ .

Все вышеперечисленные данные свидетельствуют о том, что популяция *GN*, расположенная в Гаинском лесничестве на севере Пермского края, характеризуется более высоким уровнем генетического разнообразия в сравнении с другими изученными популяциями ( $P_{95}=0,842$ ;  $H_E = 0,212$ ;  $n_e = 1,358$ ; R = 1). А доля полиморфных локусов в *GN* ( $P_{95}=0,842$ ), так же наибольшая.

В работе А. И. Видякина с соавторами [20] проведен анализ полиморфизма сосны обыкновенной из Северодвинской, Верхневелужской и Велужско-Вятской популяций востока Восточно-Европейской равнины, которая граничит со Средним Уралом. В изученных трех популяциях *P. sylvestris*, расположенных на равнине, в результате ПЦР выявлено 114 ISSR-PCR маркеров, а в исследованиях в природных популяциях в Китае Ли Хуэйюй с соавторами было выявлено 108 ISSR-PCR маркеров [21]. Доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) в общей выборке популяций с Восточно-Европейской равнины России незначительно выше, чем в изученных популяциях Пермского края, и составила 0,956 [20],

Таким образом, при сравнении с литературными данными, такие показатели генетического разнообразия изученных популяций сосны обыкновенной Пермского края как доля полиморфных локусов и абсолютное число аллелей высоки ( $P_{95} = 0,905$ ;  $n_a = 1,905$ ), ожидаемая гетерозиготность и эффективное число аллелей имеют средние для вида значения ( $H_E = 0,187$ ;  $n_e = 1,402$ ).

Содержание смоляных кислот у сосны обыкновенной в разных регионах Евразии зависит от ряда причин. Полученные данные позволяют в дальнейшем выявить роль генетического разнообразия сосны обыкновенной на популяционном уровне в синтезе абсцизовой кислоты, обладающей противомикробной активностью.

*Работа выполнена в рамках государственного задания №FSNF-2020-0008 ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по науке 2020 года*

#### Список литературы:

1. Schmidt G. A., Girard T. D., Kress J. P., Morris P. E., Ouellette D. R., Alhazzani W., ... Ferrer M. Official executive summary of an American Thoracic Society/American College of Chest Physicians clinical practice guideline: liberation from mechanical ventilation in critically ill adults // American journal of respiratory and critical care medicine. 2017. V. 195. №1. P. 115-119. <https://doi.org/10.1164/rccm.201610-2076ST>
2. Liu J., Zheng X., Tong Q., Li W., Wang B., Sutter K., ... Yang D. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV // Journal of medical virology. 2020. V. 92. №5. P. 491-494. <https://doi.org/10.1002/jmv.25709>
3. Остроухова Л. А., Федорова Т. Е., Онучина Н. А., Левчук А. А., Бабкин В. А. Определение количественного содержания экстрактивных веществ из древесины, корней и коры деревьев хвойных видов Сибири: лиственницы (*Larix sibirica* L.), сосны (*Pinus sylvestris* L.), пихты (*Abies sibirica* L.), ели (*Picea obovata* L.) и кедра (*Pinus sibirica* Du Tour) // Химия растительного сырья. 2018. №4. С. 185-195. <https://doi.org/10.14258/jcprpm.2018044245>
4. Пентегова В. А., Дубовенко Ж. В., Ралдугин В. А., Шмидт Э. П. Терпеноиды хвойных растений. Новосибирск: Наука, 1987. 97 с.
5. Ралдугин В. А. Тритерпеноиды пихты и высокоэффективный регулятор роста растений на их основе // Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева). 2004. Т. 48. №3. С. 84-88.
6. Keeling C. I., Bohlmann J. Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens // New Phytologist. 2006. V. 170. №4. P. 657-675. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01716.x>
7. Лацерус Л. А. Применение терпеноидсодержащего препарата Абисил в лечении и профилактике хирургической инфекции // Российский биотерапевтический журнал. 2010. Т. 9. №1. С. 39-41.
8. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая Волна, 2005. 1200 с.
9. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / под ред. Н. И. Переводчиковой. М.: Практическая медицина, 2005. 704 с.
10. Лутова Л. А. Генетика развития растений / ред. С. Г. Инге-Вечтомов. СПб: Н-Л, 2010. 432 с.

11. Cota-Sánchez J. H., Remarchuk K., Ubayasena K. Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue // *Plant Molecular Biology Reporter*. 2006. V. 24. №2. P. 161-167. <https://doi.org/10.1007/BF02914055>
12. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. 1994. V. 20. №2. P. 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
13. Бобошина И. В., Нечаева Ю. С., Видякин А. И., Боронникова С. В. Подбор праймеров для проведения ISSR-анализа полиморфизма ДНК *Pinus sylvestris* L. // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: Тезисы научной конференции. Ростов-на-Дону. 2013. С. 17-20.
14. Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края. Пермь. 2013. 223 с.
15. Yeh F. C., Yang R. C., Mao J., Ye Z., Boyle T. J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada. 1996. V. 238.
16. Peakall R. O. D., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Molecular ecology notes*. 2006. V. 6. №1. P. 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
17. Williams J. G., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic acids research*. 1990. V. 18. №22. P. 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
18. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // *Genetics*. 1964. V. 49. №4. P. 725. PMID: PMC1201091
19. Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press, 1987.
20. Видякин А. И., Боронникова С. В., Нечаева Ю. С., Пришневская Я. В., Бобошина И. В. Генетическая изменчивость, структура и дифференциация популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на северо-востоке Русской равнины по данным молекулярно-генетического анализа // *Генетика*. 2015. Т. 51. №12. С. 1401-1409. <https://doi.org/10.7868/S0016675815120139>
21. Li H., Jiang J., Liu G., Ma X., Dong J., Lin Sh. Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers // *Journal of Forestry Research*. 2005. V. 16. №3. P. 216-218. <https://doi.org/10.1007/BF02856818>

#### References:

1. Schmidt, G. A., Girard, T. D., Kress, J. P., Morris, P. E., Ouellette, D. R., Alhazzani, W., ... & Ferrer, M. (2017). Official executive summary of an American Thoracic Society/American College of Chest Physicians clinical practice guideline: liberation from mechanical ventilation in critically ill adults. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 195(1), 115-119. <https://doi.org/10.1164/rccm.201610-2076ST>
2. Liu, J., Zheng, X., Tong, Q., Li, W., Wang, B., Sutter, K., ... & Yang, D. (2020). Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *Journal of medical virology*, 92(5), 491-494. <https://doi.org/10.1002/jmv.25709>
3. Ostroukhova, L. A., Fedorova, T. E., Onuchina, N. A., Levchuk, A. A., & Babkin, V. A. (2018). Determination of quantitative content of extractive substances from the wood, roots and

bark of coniferous species in Siberian: Larch (*Larix sibirica* L.), Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.), Fir (*Abies sibirica* L.), Spruce (*Picea obovata* L.) and Cedar (*Pinus sibirica* du Tour.). *Chemistry of Plant Raw Material*, (4), 185-195. (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018044245>

4. Pentegova, V. A., Dubovenko, Zh. V., Raldugin, V. A., & Shmidt, E. P. (1987). Terpenoidy khvoynykh rastenii. Novosibirsk. (in Russian).

5. Raldugin, V. A. (2004). Triterpenoidy pikhty i vysokoeffektivnyi regulyator rosta rastenii na ikh osnove. *Rossiiskii khimicheskii zhurnal (Zhurnal Rossiiskogo khimicheskogo obshchestva im. D. I. Mendeleeva)*, 48(3), 84-88. (in Russian).

6. Keeling, C. I., & Bohlmann, J. (2006). Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. *New Phytologist*, 170(4), 657-675. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01716.x>

7. Lacerus, L. A. (2010). Primenenie terpenoidsoderzhashchego preparata Abisil v lechenii i profilaktike hirurgicheskoi infektsii. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 9(1), 39-41. (in Russian).

8. Mashkovskii, M. D. (2005). *Lekarstvennye sredstva*. Moscow. (in Russian).

9. *Rukovodstvo po khimioterapii opukholevykh zabolevanii* (2005). Ed. by N. I. Perevodchikovi. Moscow. (in Russian).

10. Lutova, L. A. (2010). *Genetika razvitiya rastenii*. Ed. by S. G. Inge-Vechtomov. St. Petersburg. (in Russian).

11. Cota-Sánchez, J. H., Remarchuk, K., & Ubayasena, K. (2006). Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue. *Plant Molecular Biology Reporter*, 24(2), 161-167. <https://doi.org/10.1007/BF02914055>

12. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

13. Boboshina, I. V., Nechaeva, Yu. S., Vidyakin, A. I., & Boronnikova, S. V. (2013). Podbor praimerov dlya provedeniya ISSR-analiza polimorfizma DNK *Pinus sylvestris* L. In *Molekulyarno-geneticheskie podkhody v taksonomii i ekologii: Tezisy nauchnoi konferentsii*, Rostov-on-Don, 17-20. (in Russian).

14. Boronnikova, S. V. (2013). Molekulyarno-geneticheskii analiz i otsenka sostoyaniya genofondov resursnykh vidov rastenii Permskogo kraja. Perm. (in Russian).

15. Yeh, F. C., Yang, R. C., Mao, J., Ye, Z., & Boyle, T. J. (1996). POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada*, 238.

16. Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>

17. Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>

18. Kimura, M., & Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4), 725. PMID: PMC1201091

19. Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.

20. Vidyakin, A. I., Boronnikova, S. V., Nechayeva, Y. S., Pryshnivskaya, Y. V., & Boboshina, I. V. (2015). Genetic Variation, Population structure, and Differentiation in Scots Pine (*Pinus*

*sylvestris* L.) from the Northeast of the Russian Plain as Inferred from the Molecular Genetic Analysis data. *Russian Journal of Genetics*, 51(12), 1213-1220. (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S1022795415120133>

21. Li, H., Jiang, J., Liu, G., Ma, X., Dong, J., & Lin, Sh. (2005). Genetic variation and division of *Pinus sylvestris* provenances by ISSR markers. *Journal of Forestry Research*, 16(3), 216-218. <https://doi.org/10.1007/BF02856818>

Работа поступила  
в редакцию 10.08.2020 г.

Принята к публикации  
17.08.2020 г.

---

*Ссылка для цитирования:*

Сбоева Я. В., Пыстогова Н. А., Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ популяций *Pinus sylvestris* L., обладающих смоляными кислотами с противомикробной активностью // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. №9. С. 37-44. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/58/03>

*Cite as (APA):*

Sboeva, Ya., Pystogova, N., & Boronnikova, S. (2020). Molecular-Genetic Analysis of Four Populations of *Pinus sylvestris* L., With Resin Acids With Anti-microbial Activity. *Bulletin of Science and Practice*, 6(9), 37-44. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/58/03>