

УДК 630\*165.3

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ДНК-АНАЛИЗА В ЭКСПЕРТИЗЕ НЕЗАКОННОГО ОБОРОТА ДРЕВЕСИНЫ

Е. А. Шилкина, А. А. Ибе, М. А. Шеллер, Т. В. Сухих

*Российский центр защиты леса, Центр защиты леса Красноярского края  
660036, Красноярск, Академгородок, 50а/2*

E-mail: krasgenles@mail.ru, aaibis@mail.ru, maralexsheller@mail.ru, cherkesova-tv@yandex.ru

*Поступила в редакцию 14.01.2019 г.*

Незаконная заготовка и оборот древесины являются одной из наиболее острых экологических и экономических проблем во всем мире. По некоторым оценкам, от 15 до 30 % древесины на мировом рынке имеет нелегальное происхождение. В настоящее время все большую актуальность приобретает проведение независимой экспертизы для подтверждения законности происхождения лесной продукции. Одним из эффективных подходов, позволяющих проводить такую верификацию, является генетический анализ. В данной работе представлены результаты генетической экспертизы 34 образцов древесины сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., отобранных в рамках модельного эксперимента с площади вырубленной лесосеки и из места складирования деловой древесины. Генетическое исследование проводили на основе десяти микросателлитных локусов ДНК. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации осуществляли в полиакриламидном геле. В результате проведенного гель-электрофореза получены документирующие снимки, свидетельствующие о сходстве или различии ДНК образцов древесины, отобранных с вырубленной лесосеки, и ДНК образцов древесины, взятых с места складирования. В ходе анализа выявлено 26 комбинаций многолокусных генотипов. Из них четыре варианта генотипов указывали на идентичность образцов древесины, отобранных с лесосеки, с образцами древесины, отобранными со склада. Таким образом, в рамках данного эксперимента подтверждена эффективность использования методов молекулярно-генетического анализа образцов древесины для определения степени их сходства. Выявлено, что микросателлитные локусы ДНК (SSR-анализ) позволяют достоверно верифицировать место происхождения образцов. Результаты указанных работ могут быть использованы для создания национальной системы контроля учета заготавливаемой древесины и идентификации лесной продукции.

**Ключевые слова:** *генетическое исследование, микросателлиты, сосна обыкновенная, незаконно вырубленная древесина.*

DOI: 10.15372/SJFS20190308

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время к числу наиболее острых экологических и экономических проблем во всем мире относят нелегальную заготовку леса (Degen, Fladung, 2007; Dieter et al., 2012; Jolivet and Degen, 2012). Отмечено, что от 15 до 30 % древесины на мировом рынке имеет нелегальное происхождение (Nellemann, 2012). Незаконные рубки и последующая реализация незаконно добытой древесины – одна из основных

проблем российского лесного хозяйства (Newell and Lebedev, 2000; Качина, Мирончик, 2014; Косых, 2016; Васильева, 2018). По темпам потери леса Россия занимает первое место среди других стран (Петрова, 2016). К основным причинам нелегальной заготовки древесины в Российской Федерации относят: несовершенство лесного законодательства и практики его применения, кризис системы лесоуправления, коррупцию, низкий уровень межведомственного взаимодействия, непрозрачность сделок с дре-

весинной, низкий уровень жизни в провинции, устойчивый спрос на древесину вне зависимости от ее происхождения (Сухаренко, 2014). Как следствие, незаконные рубки и неустойчивые лесозаготовки ведут к обезлесению территорий и деградации лесов (Burgess et al., 2012; Вахнина и др., 2017).

В целях противодействия обороту нелегально заготовленной древесины в ряде зарубежных стран приняты законодательные акты, направленные на запрет экспорта такой продукции (Lawson, 2015; Гаевская, 2016). Зачастую реализация отдельных нормативно-правовых требований связана с необходимостью проведения независимой экспертизы для подтверждения законности происхождения лесоматериалов (Vlam et al., 2018).

Одним из эффективных подходов, позволяющих проводить такую верификацию, является генетический анализ (Jolivet and Degen, 2012; Vlam et al., 2018). Многочисленные методики генетических исследований основаны на использовании различных молекулярных маркеров (Deguilloux et al., 2003, 2004; Hebert et al., 2003; Hardy et al., 2006; Degen and Fladung, 2007; Finkeldey et al., 2007; Lowe, 2007; Tnah et al., 2009, 2010; Degen et al., 2010, 2013; Lowe, Cross, 2011; Muellner et al., 2011; Jolivet and Degen, 2012; Blanc-Jolivet and Liesebach, 2015). В данной работе для проведения генетической экспертизы выбраны микросателлитные локусы. Они представляют собой фрагменты ДНК с большим количеством tandemно повторяющихся идентичных «мотивов» (Tautz, 1993). Высокий полиморфизм микросателлитов позволяет с высокой точностью идентифицировать орга-

низм и выявить биологическое родство. С помощью данных маркеров можно быстро и точно определить место происхождения деревьев (Jolivet, Degen, 2012).

Цель данной работы – апробация методики генетической экспертизы образцов древесины для определения степени их идентичности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы древесины сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., отобранные в рамках модельного эксперимента с площади вырубленной лесосеки (13 экз.) и из места складирования деловой древесины (21 экз.), всего 34 образца.

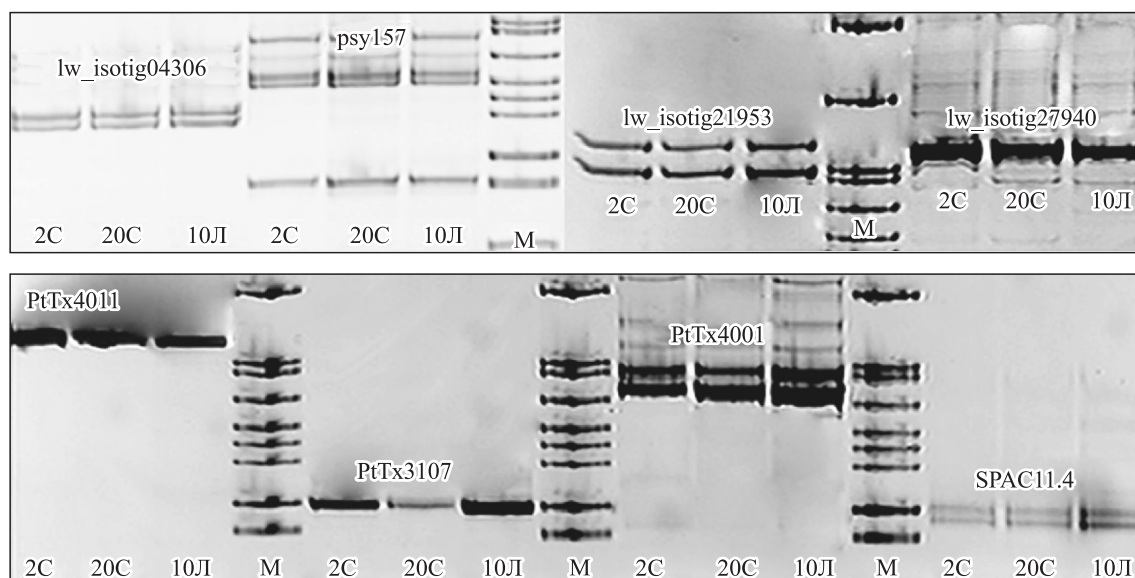
Древесину тщательно измельчали, гомогенизировали и выделяли ДНК СТАВ-методом (Devey et al., 1996). В результате предварительной работы по выявлению наиболее полиморфных и стабильно амплифицирующихся локусов отобрано 10 микросателлитных маркеров (табл. 1).

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) применяли наборы ScreenMix-HS производства ЗАО «Евроген» (Россия). В готовые (5х окрашенные) реакционные смеси ScreenMix-HS добавляли прямой и обратный олигонуклеотидные праймеры в концентрации 0.2–0.4 мкМ и выделенный образец ДНК сосны обыкновенной. ПЦР проводили в ДНК-амплификаторе T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad).

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили в 6%-м полиакриламидном геле (ПААГ) с использованием 1×TAE буфера в камерах для вертикального

**Таблица 1.** Характеристика отобранных для работы ядерных микросателлитных локусов для сосны обыкновенной

| № п/п | Локус          | Мотив                                 | Размеры ампликона, п. н. | Температура отжига, °С | Число аллелей | Источник                  |
|-------|----------------|---------------------------------------|--------------------------|------------------------|---------------|---------------------------|
| 1     | lw_isotig04306 | (TCC) <sub>7</sub>                    | 196                      | 55                     | 3             | (Fang et al., 2014)       |
| 2     | lw_isotig21953 | (ATGGG) <sub>7</sub>                  | 208                      | 60                     | 7             | Тот же                    |
| 3     | lw_isotig27940 | (TGGA) <sub>5</sub>                   | 231                      | 55                     | 3             | »                         |
| 4     | PtTx3116       | (TTG) <sub>7</sub> (TTG) <sub>5</sub> | 122–226                  | 55                     | 8–10          | (Belletti et al., 2012)   |
| 5     | PtTx3107       | (CAT) <sub>14</sub>                   | 150–182                  | 55–45↓1                | 5–6           | Тот же                    |
| 6     | PtTx4001       | (CA) <sub>15</sub>                    | 201–224                  | 60–50↓1                | 4–7           | »                         |
| 7     | PtTx4011       | (CA) <sub>20</sub>                    | 230–284                  | 60–50↓1                | 21            | »                         |
| 8     | SPAC11.4       | (AT) <sub>5</sub> (GT) <sub>19</sub>  | 130–170                  | 65–55↓1                | 38            | (Soranzo et al., 1998)    |
| 9     | psy119         | (GCT) <sub>7</sub>                    | 315–324                  | 55                     | 3             | (Sebastiani et al., 2012) |
| 10    | psy157         | (ACC) <sub>7</sub>                    | 187–202                  | 55                     | 6             | Тот же                    |



Электрофоретический спектр продуктов амплификации микросателлитных локусов lw\_isotig04306, Psy157, lw\_isotig21953, lw\_isotig27940, PtTx4011, PtTx3107, PtTx4001 и SPAC11.4 у образцов сосны обыкновенной с места складирования и лесосеки. Дорожки 2С, 20С, 10Л – номера образцов. М – маркер молекулярной массы ДНК.

электрофореза (VE-20, ООО «Хеликон») в комплекте с источниками питания при напряжении 200 В в течение 2 ч. Гели окрашивали раствором бромистого этидия с дальнейшей визуализацией ампликонов в УФ-свете с помощью системы гель-документации Gel-Imager. В качестве электрофоретического стандарта использовали ДНК плазмиды pBR322 кишечной палочки *Escherichia coli* Migula, обработанную рестриктазой *HpaII*. Считывание результатов анализа осуществляли с помощью программы Photo-Capt V.12.4 (Vilber Lourmat). Анализ установленных генотипов проводили с помощью программы (макроса) GenAlEx, свободно распространяемой надстройки для MS Excel (Peakall and Smouse, 2012).

После проведения полимеразной цепной реакции и электрофоретического разделения фрагментов выделенной ДНК были получены документирующие снимки, свидетельствующие о сходстве или различии ДНК-образцов древесины, отобранных с вырубленной лесосеки, и ДНК-образцов древесины, взятых с места складирования (см. рисунок).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе анализа электрофоретических спектров ампликонов 10 микросателлитных локусов в образцах сосны обыкновенной с места складирования и лесосеки выявлено 42 аллельных

варианта. Наиболее высоким полиморфизмом отличаются локусы PtTx3116 и SPAC11.4 – 6 аллельных вариантов (табл. 2).

Частота аллелей в локусах варьирует от 0.024 до 0.885. Вероятность случайного совпадения многолокусных генотипов, рассчитанная по выявленным частотам аллелей, составила  $2.3 \times 10^{-6}$ . Данное значение говорит о низкой вероятности случайного совпадения генотипов (Methods..., 1996)

На основе данных электрофореграмм выявлено 26 комбинаций многолокусных генотипов, четыре из которых встречались у нескольких образцов. Результаты совпадений генотипов между образцами представлены в табл. 3.

Проведенный молекулярно-генетический анализ двух партий образцов выявил следующие соответствия «образец древесины, отобранный с вырубленной лесосеки – образец древесины, взятый с места складирования»: образец с лесосеки № 8Л соответствует образцам со склада № 9С и № 10С (генотип А); образец с лесосеки № 10Л – образцам со склада № 2С и № 20С (генотип В); образец с лесосеки № 7Л – образцам со склада № 5С и № 13С (генотип С); образец с лесосеки № 9Л – образцам со склада № 16С и № 19С (генотип D). Совпадение генотипов у образцов в месте складирования между собой связано с сегментированием лесоматериала (стволы одного дерева распиливаются на несколько частей).

**Таблица 2.** Частота встречаемости аллелей в образцах сосны обыкновенной с лесосеки и с места складирования

| Локус    | Аллель | Образцы с лесосеки | Образцы с места складирования |
|----------|--------|--------------------|-------------------------------|
| lw_21953 | 203    | 0.077              | 0.000                         |
|          | 223    | 0.038              | 0.048                         |
|          | 243    | 0.038              | 0.119                         |
|          | 248    | 0.038              | 0.000                         |
|          | 253    | 0.077              | 0.048                         |
|          | 263    | 0.731              | 0.786                         |
| lw_04306 | 181    | 0.154              | 0.214                         |
|          | 187    | 0.731              | 0.714                         |
|          | 193    | 0.115              | 0.071                         |
| lw_27940 | 227    | 0.154              | 0.119                         |
|          | 239    | 0.077              | 0.214                         |
|          | 243    | 0.077              | 0.000                         |
|          | 247    | 0.115              | 0.048                         |
|          | 255    | 0.577              | 0.619                         |
| PtTX3107 | 150    | 0.038              | 0.024                         |
|          | 153    | 0.077              | 0.048                         |
|          | 159    | 0.577              | 0.548                         |
|          | 165    | 0.231              | 0.310                         |
|          | 171    | 0.077              | 0.071                         |
| PtTX3116 | 119    | 0.192              | 0.262                         |
|          | 134    | 0.077              | 0.143                         |
|          | 146    | 0.038              | 0.000                         |
|          | 155    | 0.615              | 0.548                         |
|          | 164    | 0.000              | 0.024                         |
|          | 170    | 0.077              | 0.024                         |
| PtTX4001 | 209    | 0.192              | 0.190                         |
|          | 219    | 0.500              | 0.500                         |
|          | 239    | 0.308              | 0.310                         |
| PtTX4011 | 260    | 0.769              | 0.571                         |
|          | 268    | 0.115              | 0.214                         |
|          | 272    | 0.115              | 0.214                         |
| psy157   | 187    | 0.000              | 0.024                         |
|          | 196    | 0.846              | 0.786                         |
|          | 208    | 0.154              | 0.190                         |
| psy119   | 315    | 0.885              | 0.810                         |
|          | 324    | 0.115              | 0.190                         |
| SPAC11.4 | 138    | 0.192              | 0.452                         |
|          | 142    | 0.077              | 0.048                         |
|          | 146    | 0.423              | 0.119                         |
|          | 152    | 0.192              | 0.238                         |
|          | 156    | 0.038              | 0.024                         |
|          | 160    | 0.077              | 0.119                         |

**Таблица 3.** Число совпадений генотипов у образцов древесины с лесосеки с образцами древесины, изъятими с места складирования

| Образец                      | Число совпадений | Генотип   | Обозначение генотипа |
|------------------------------|------------------|---|----------------------|
| С места складирования № 10С* | 3                | 2632231931872552471651651551552<br>19209268268196196315315160152g | А                    |
| То же № 9С                   |                  | 2632231931872552471651651551552<br>19209268268196196315315160152g | А                    |
| С лесосеки № 8Л              |                  | 2632231931872552471651651551552<br>19209268268196196315315160152g | А                    |
| С места складирования № 20С  | 3                | 2632431871812552551591591551192<br>39219260260196196324315160152g | В                    |
| То же № 2С                   |                  | 2632431871812552551591591551192<br>39219260260196196324315160152g | В                    |
| С лесосеки № 10Л             |                  | 2632431871812552551591591551192<br>39219260260196196324315160152g | В                    |
| С места складирования № 13С  | 3                | 2632631871812552271651651551192<br>39219272260208196315315138138g | С                    |
| То же № 5С                   |                  | 2632631871812552271651651551192<br>39219272260208196315315138138g | С                    |
| С лесосеки № 7Л              |                  | 2632631871812552271651651551192<br>39219272260208196315315138138g | С                    |
| С места складирования № 19С  | 3                | 2632631871872552391711591341342<br>19209272260208196315315152138g | Д                    |
| То же № 16С                  |                  | 2632631871872552391711591341342<br>19209272260208196315315152138g | Д                    |
| С лесосеки № 9Л              |                  | 2632631871872552391711591341342<br>19209272260208196315315152138g | Д                    |

\* *Примечание.* Образцы: С – с места складирования, Л – с лесосеки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках модельного эксперимента подтверждена эффективность использования генетической экспертизы образцов древесины для определения степени их идентичности. Выявлено, что использованные микросателлитные локусы ДНК (SSR-анализ) позволяют достоверно верифицировать место происхождения образцов.

Молекулярно-генетический анализ двух партий образцов выявил 4 генотипа, указывающих на соответствие «образец древесины, отобранный с вырубленной лесосеки – образец древесины, взятый с места складирования».

В перспективе планируется расширение масштаба апробации методики. Результаты указанных работ могут быть использованы в дальнейшем для создания национальной системы контроля учета заготавливаемой древесины и идентификации лесной продукции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Васильева М. А.* Криминалистические проблемы расследования приобретения, хранения, перевозки, переработки в целях сбыта или сбыта заведомо незаконно заготовленной древесины // Тр. Акад. упр. МВД России. 2018. № 1 (45). С. 100–103.
- Вахнина И. Л., Жаворонков Ю. М., Колесникова А. В.* Практика применения судебной дендрохронологии при борьбе с нелегальными рубками леса на территории Российской Федерации // Молодой ученый. 2017. № 4. С. 196–200.
- Гаевская Е. Ю.* Обзор изменений законодательства в сфере борьбы с незаконной заготовкой древесины // Вестн. Междунар. ин-та экон. и права. 2016. № 2 (23). С. 104–115.
- Качина Н. В., Мирончик А. С.* Пути повышения эффективности уголовной ответственности за незаконную рубку лесных насаждений // Криминол. журн. Байкал. гос. ун-та экон. и права. 2014. № 3. С. 103–112.
- Косых В. А.* К вопросу о преступлениях, связанных с незаконной заготовкой древесины (криминологи-



- ческий аспект // Вестн. СПб. ун-та МВД России. 2016. № 3 (71). С. 113–117.
- Петрова Т. Г. Современное состояние экологической проблемы, связанной с незаконной рубкой, нелегальной заготовкой и оборотом древесины в России и за рубежом // Вестн. Вост.-Сиб. ин-та МВД России. 2016. № 2 (77). С. 31–35.
- Сухаренко А. Н. Под властью топора // Эл. журн. Юрист. 2014. № 27. С. 1–3.
- Belletti P., Ferrazzini D., Piotti A., Monteleone I., Ducci F. Genetic variation and divergence in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) within its natural range in Italy // Europ. J. For. Res. 2012. V. 131. Iss. 4. P. 1127–1138.
- Blanc-Jolivet C., Liesebach M. Tracing the origin and species identity of *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Europe: a review // Silvae Genet. 2015. V. 64. Iss. 4. P. 182–193.
- Burgess R., Hansen M., Olken B. A., Potapov P., Sieber S. The political economy of deforestation in the tropics // The Quart. J. Econ. 2012. V. 127. N. 4. P. 1707–1754.
- Degen B., Fladung M. Use of DNA-markers for tracing illegal logging // Proc. Int. Workshop Fingerprinting methods for the identification of timber origins, Oct. 8–9, 2007, Bonn, Germany / Landbauforschung vTI Agr. For. Res. Sonderheft 321. Spec. Iss. Braunschweig, Germany: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 2007. P. 6–14.
- Degen B., Höltnken A., Rogge M. Use of DNA-fingerprints to control the origin of forest reproductive material // Silvae Genet. 2010. V. 59. Iss. 6. P. 268–273.
- Degen B., Ward S. E., Lemes M. R., Navarro C., Cavers S., Sebbenn A. M. Verifying the geographic origin of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) with DNA-fingerprints // Forensic Sci. Int.: Gen. 2013. V. 7. Iss. 1. P. 55–62.
- Deguilloux M.-F., Pemonge M.-H., Bertel L., Kremer A., Petit R. J. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools // Mol. Ecol. 2003. V. 12. Iss. 6. P. 1629–1636.
- Deguilloux M.-F., Pemonge M.-H., Petit R. J. DNA-based control of oak wood geographic origin in the context of the cooperage industry // Ann. For. Sci. 2004. V. 61. N. 1. P. 97–104.
- Devey M. E., Bell J. C., Smith D. N., Neale D. B., Moran G. F. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers // Theor. Appl. Genet. 1996. V. 92. Iss. 6. P. 673–679.
- Dieter M., Englert H., Weimar H. Wood from illegal harvesting in EU markets: estimations and open issues // Landbauforsch. Appl. Agric. For. Res. 2012. V. 62. Iss. 4. P. 247–254.
- Fang P., Niu S., Yuan H., Li Z., Zhang Y., Yuan L., Li W. Development and characterization of 25 EST-SSR markers in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Pinaceae) // Appl. Plant Sci. 2014. V. 2. Iss. 1. P. 1–4. Article number: 1300057.
- Finkeldey R., Rachmayanti Y., Nuroniah H., Nguyen-Phi N., Cao C., Gailing O. Identification of the timber origin of tropical species by molecular genetic markers – the case of dipterocarps // Proc. Int. Workshop Fingerprinting methods for the identification of timber origins, Oct. 8–9, 2007, Bonn, Germany / Landbauforschung vTI Agr. For. Res. Sonderheft 321. Spec. Iss. Braunschweig, Germany: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 2007. P. 20–27.
- Jolivet C., Degen B. Use of DNA fingerprints to control the origin of sapelli timber (*Entandrophragma cylindricum*) at the forest concession level in Cameroon // Forensic Sci. Int. Genet. 2012. V. 6. Iss. 4. P. 487–493.
- Hardy O. J., Maggia L., Bandou E., Breyne P., Caron H., Chevallier M. H., Doligez A., Dutech C., Kremer A., Latouche-Halle C., Troispoux V., Veron V., Degen B. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 neotropical tree species // Mol. Ecol. 2006. V. 15. Iss. 2. P. 559–571.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., de Waard J. R. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci. 2003. V. 270. Iss. 1512. P. 313–321.
- Lowe A. J. Can we use DNA to identify the geographic origin of tropical timber? // Proc. Int. Workshop Fingerprinting methods for the identification of timber origins, Oct. 8–9, 2007, Bonn, Germany / Landbauforschung vTI Agr. For. Res. Sonderheft 321. Spec. Iss. Braunschweig, Germany: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 2007. P. 15–19.
- Lowe A. J., Cross H. B. The application of DNA methods to timber tracking and origin verification // IAWA J. 2011. V. 32. Iss. 2. P. 251–262.
- Lawson S. The Lacey act's effectiveness in reducing illegal wood imports. Cambridge, MA, USA: Union of Concerned Scientists, 2015. 16 p.
- Methods of genome analysis in plants / P. P. Jauhar (Ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1996. 386 p.
- Muellner A. N., Schaefer H., Lahaye R. Evaluation of candidate DNA barcoding loci for economically important timber species of the mahogany family (Meliaceae) // Mol. Ecol. Resour. 2011. V. 11. Iss. 3. P. 450–460.
- Nellemann C. Green carbon, black trade: illegal logging, tax fraud and laundering in the world's tropical forests. A rapid response assessment. Nairobi, Kenya: IUCN, 2012. 72 p.
- Newell J., Lebedev A. Plundering Russia's Far Eastern taiga. Vladivostok: Bureau for Reg. Orient. Campaigns, 2000. 47 p.
- Peakall R., Smouse P. E. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. Iss. 19. P. 2537–2539.
- Sebastiani F., Pinzauti F., Kujala S. T., González-Martínez S. C., Vendramin G. G. Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. // Conserv. Genet. Res. 2012. V. 4. Iss. 2. P. 231–234.
- Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. // Mol. Ecol. 1998. V. 7. N. 9. P. 1260–1261.
- Tautz D. Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences In: DNA fingerprinting: state of the science / S. D. J. Pena, J. T. Chakraborty, J. T. Epplen, A. J. Jeffreys (Eds.). Springer Basel AG. Basel, Switzerland: Birkhäuser, 1993. P. 21–28.

Tnah L. H., Lee S. L., Ng K. K. S., Tani N., Bhassu S., Othman R. Y. Geographical traceability of an important tropical timber (*Neobalanocarpus heimii*) inferred from chloroplast DNA // For. Ecol. Manag. 2009. V. 258. Iss. 9. P. 1918–1923.

Tnah L. H., Lee S. L., Ng K. K. S., Faridah Q.-Z., Faridah-Hanum I. Forensic DNA profiling of tropical timber

species in Peninsular Malaysia // For. Ecol. Manag. 2010. V. 259. Iss. 8. P. 1436–1446.

Vlam M., Groot G. A. de, Boom A., Copini P., Laros I., Veldhuijzen K., Zakamdi D., Zuidema P. A. Developing forensic tools for an African timber: Regional origin is revealed by genetic characteristics, but not by isotopic signature // Biol. Conserv. 2018. V. 220. P. 262–271.

## USING METHODS OF DNA-ANALYSIS IN THE EXAMINATION OF THE ILLEGAL TIMBER TRADE

E. A. Shilkina, A. A. Ibe, M. A. Sheller, T. V. Sukhikh

Russian Centre for Forest Health, Center for Forest Health of Krasnoyarsk Krai  
Akademgorodok, 50a/2, Krasnoyarsk, 660036 Russian Federation

---

E-mail: krasgenles@mail.ru, aaibis@mail.ru, maralexsheller@mail.ru, cherkesova-tv@yandex.ru

Illegal timber harvesting and traffic is one of the most pressing environmental and economic problems worldwide. According to some estimates, between 15 to 30 % of the world's timber market are of illegal origin. At present it is becoming increasingly important to conduct an independent examination to confirm the legality of the origin of forest products. One of the effective approaches that allow such verification is genetic analysis. This paper presents the results of genetic examination of 34 timber samples of Scots pine *Pinus sylvestris* L., collected in the framework of a model experiment from the logged area and from the timber storage site. Genetic analysis was performed on the basis of ten microsatellite loci of DNA. Electrophoretic separation of amplification products was carried out in a polyacrylamide gel. The images indicating the identity or difference in DNA of timber samples collected from the logged area and timber samples collected from timber storage site were obtained by gel electrophoresis. 26 combinations of multilocus genotypes were identified in the analysis. Four variants of the genotypes indicated the identity of timber samples collected from the logged area and timber samples collected from the timber storage site. Thus, within the framework of this experiment the efficiency of using the methods of molecular genetic analysis of timber samples to determine the degree of their identity is confirmed. It was revealed that the microsatellite loci of DNA (SSR-analysis) can reliably verify the place of origin of samples. The results of these works can be used to create a national system of harvested timber control and identification of forest products.

**Keywords:** genetic studies, microsatellites, Scots pine, illegally harvested timber.

**How to cite:** Shilkina E. A., Ibe A. A., Sheller M. A., Sukhikh T. V. Using methods of DNA-analysis in the examination of the illegal timber trade // *Sibirskiy Lesnoj Zhurnal* (Sib. J. For. Sci.) 2019. N. 3. P. 64–70 (in Russian with English abstract).