

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ  
МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ  
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ЛЕСНОГО  
ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННОГО КОМПЛЕКСА**

УДК 606\*577

**ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И  
ЛЕСОВОДСТВЕННО-СЕЛЕКЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ПОЛИПЛОИДНЫХ ТОПОЛЕЙ**

© 2014 г. А. И. Сиволапов<sup>1</sup>, Д. В. Политов<sup>2</sup>, О. С. Машкина<sup>3</sup>, М. М. Белоконов<sup>2</sup>,  
В. А. Сиволапов<sup>4</sup>, Ю. С. Белоконов<sup>2</sup>, Т. М. Табацкая<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Воронежская государственная лесотехническая академия  
394087, Воронеж, ул. Тимирязева, 8

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН  
119991, Москва, ул. Губкина, 3

<sup>3</sup> Воронежский государственный университет  
394006, Воронеж, Университетская площадь, 1

<sup>4</sup> Филиал Российского центра защиты леса  
Центр защиты леса Воронежской области  
394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105

<sup>5</sup> Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии  
394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105

E-mail: Aleksey-Sivolapov@yandex.ru, Dmitri\_p@inbox.ru, olga\_mashkina@yahoo.com,  
belokon@vigg.ru, Vladimir-Sivolapov@yandex.ru, yuri\_b@vigg.ru

Поступила в редакцию 31.07.2014 г.

Рассмотрены результаты цитологических, лесоводственно-селекционных исследований и ДНК-анализа полиплоидных тополей. У клонов тополя изучены продуктивность, числа хромосом, проведены подбор и тестирование микросателлитных локусов для генетической паспортизации посадочного материала. Исследование показало высокую эффективность диагностики видов, индивидуальных генотипов и клонов внутри видов и гибридов на основе генных маркеров полиморфизма микросателлитной ДНК.

**Ключевые слова:** тополь, осина, полиплоиды, числа хромосом, ДНК-анализ, продуктивность культур тополя.

## ВВЕДЕНИЕ

Тополь (*Populus L.*) среди быстрорастущих древесных растений является самой высокопродуктивной породой умеренного пояса (Сиволапов, 2005; Сиволапов и др., 2010). Это одна из хозяйственно ценных древесных пород и удобный модельный объект для генетико-селекционных исследований (Stettler et al., 1996; Сиволапови др., 2014). Получены не только его гибриды, но и сорта. Особый практический интерес представляют трипло-

идные тополя ( $2n = 3x = 57$ ), нередко проявляющие соматический гетерозис. Практическая ценность миксоплоидов (характеризующихся наличием в тканях клеток с различным числом хромосом) заключается в довольно частом сочетании у них высокой продуктивности с адаптивностью к различным экологическим условиям (в том числе экстремальным), что важно для создания лесных плантаций, лесовосстановления, лесоразведения и озеленения в промышленных городах, испытывающих антропогенную нагрузку.

Известно, что наиболее продуктивными, устойчивыми и ценными в средней полосе России являются корнеотпрысковые тополя подрода *Leuce Duby* (Сиволапов, 2005; Сиволапов и др., 2010, 2014). Наибольшую ценность представляют полиплоиды тополя сереющего, зарегистрированные как сорта для промышленного разведения (Патент на селекционное достижение № 118; А. с. № 44340).

## ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель работы – проведение комплексного исследования роста и оценка продуктивности сортоиспытательных культур тополя сереющего, его биологической устойчивости к био- и абиотическим факторам среды, изучение технических свойств его древесины, проведение цитологического анализа, определение числа хромосом с целью выяснения уровня миксоплоидии, а также подбор и тестирование молекулярно-генетических маркеров для генетической паспортизации посадочного материала тополя сереющего.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На экспериментальных культурах тополя (по типу плантационных) Семилукского питомника (Воронежская обл.) по методике М. М. Вересина и А. П. Царева (1974) изучали сохранность, рост и устойчивость к различным факторам среды, качество древесины испытываемых деревьев и некоторые цитологические характеристики. У каждого дерева определяли диаметр, высоту, размер и форму ствола, повреждения вредными организмами и погодными условиями, пол, плодоношение. Подсчитывали число хромосом в соматических клетках листьев.

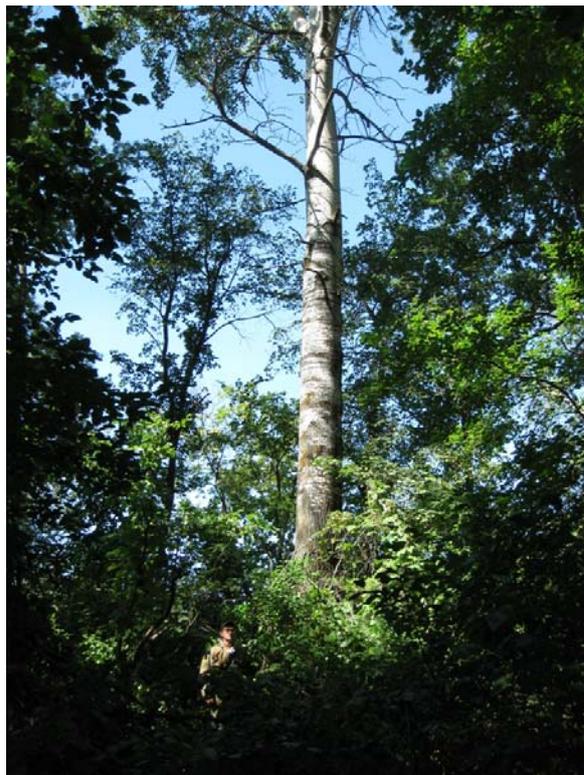
При подборе и тестировании молекулярных маркеров для генетической паспортизации посадочного материала исследовали ценные генотипы тополя сереющего, а для сравнения – гибриды тополя белого и осины. В ходе работы подобраны ядерные микросателлитные маркеры для дальнейшей генетической паспортизации. ДНК выделяли из вегетативных почек с использованием СТАВ, ПЦР проводили с помощью наборов произ-

водства ООО «Лаборатория Изоген». Для микросателлитных локусов наборов ORPM и WPMS (Van der Schoot et al., 2000; Smulders et al., 2001) использовали режимы ПЦР, включавшие предварительную денатурацию ДНК при 94 °С в течение 3 мин, затем 30 циклов в течение 1 мин, при 94 °С, время отжига при 60 °С и инкубирование 1 мин, 30 с при 72 °С. Элонгация проводилась 10 мин при температуре 72 °С. Программа завершалась охлаждением реакционной смеси до 4 °С. Фрагменты анализировали с помощью вертикального электрофореза в полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете. В качестве маркера относительной молекулярной массы использовали плазмиду *E. coli* pBR322, обработанную эндонуклеазой рестрикции *HpaII*. Цифровые изображения гелей получали с помощью системы гель-документации KODAK и обрабатывали с помощью программы 1D-Scan для получения информации о размере фрагментов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Родоначальником сорта тополя Хоперский 1 является аллотриплоидная крупнолиственная форма (*Populus canescens* Sm.), отобранная А. И. Сиволаповым в 1976 г. в Хоперском заповеднике (рис. 1). Пол женский. По данным автора, это дерево является миксоплоидом с преобладанием в соматической ткани триплоидных клеток с 57 хромосомами (74 %). Остальные 26 % приходятся на долю ди- и анеуплоидных клеток с 38 хромосомами (Сиволапов, 2005).

Родоначальником сорта тополя сереющего Приярский (рис. 2) (Сиволапов, 2007) является высокопродуктивная исполинская форма, отобранная в 1976 г. в пойме р. Дон в Давыдовском лесхозе Воронежской области (близ с. Прияр). Пол мужской. Помимо высокой продуктивности клон отличается экологической пластичностью. По данным автора, отобранное дерево было миксоплоидом с преобладанием в соматической ткани триплоидных клеток ( $2n = 3x = 57 - 58.2\%$ ). На долю клеток с  $2n = 2x = 38$  приходится 16.4 %, тетраплоидных  $2n = 4x = 76 - 3.6\%$ ,



**Рис. 1.** Родоначальник сорта тополя Хоперский 1. Плюсовое дерево крупнолистной триплоидной формы тополя сереющего. Хоперский заповедник. Возраст 57 лет, диаметр 87 см, высота 41 м.

анеуплоидных разного уровня – 21.8 %. Проведенный повторно через 20 лет подсчет

числа хромосом в листьях модельного дерева показал, что доля триплоидных клеток в листьях сократилась до 7 % только в верхней части кроны, а в нижней и средней встречаются диплоидные клетки, т. е. наблюдается онтогенетическая изменчивость числа хромосом у исполинской формы тополя сереющего (Сиволапов, 2005).



**Рис. 2.** Родоначальник сорта тополя Приярский. Возраст 40 лет. Запас 1200 м<sup>3</sup>/га. Давыдовский лесхоз Воронежской области.

Одной из основных характеристик технических свойств является плотность древесины, которая позволяет судить о прочности, усушке, ее механических свойствах. Этот показатель используют для прогнозирования свойств бумаги и древесно-стружечных плит. Сорта тополя Хоперский 1 и Приярский имеют высокую плотность древесины – 529.6 и 645.7 кг/м<sup>3</sup> соответственно (для сравнения: у тополя белого 407.4, а у дуба черешчатого 700 кг/м<sup>3</sup>). У тополя Приярского отмечено высокое содержание механической ткани в древесине (Сиволапов, 2005).

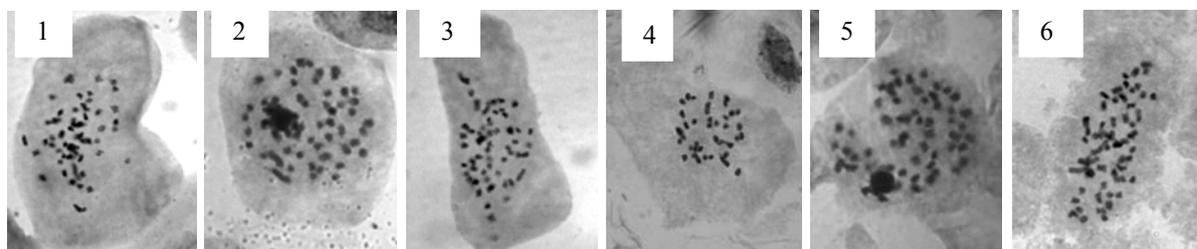
В 1983 г. в Семилукском питомнике Центрального научно-исследовательского института лесной генетики и селекции создан экспериментальный сортоиспытательный участок поли- и диплоидных тополей. Это образцовый пример создания культур тополя на зем-

**Таблица 1.** Показатели роста и продуктивности сортообразцов тополей в 26 лет на испытательном участке в Семилукском питомнике

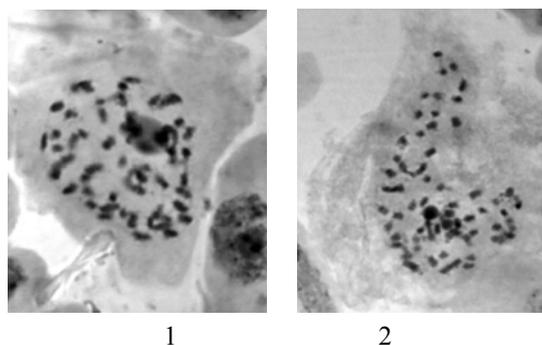
Тополь	Высота, м ( $H \pm m$ )	Диаметр, см ( $D \pm m$ )	Запас, м <sup>3</sup> /га	Число хромосом
Бальзамический	18.3±0.40	18.0±0.61	91	2n = 38
Робуста-236	22.5±0.33	26.5±0.83	284	2n = 38
Э.С.-38	22.8±0.26	23.8±0.72	227	2n = 57
3n № 1	21.5±0.15	24.8±0.91	232	2n = 57
3n № 2	22.5±0.17	23.5±0.74	243	2n = 57
Хоперский 1	27.2±0.43	37.3±1.15	715	2n = 57

**Таблица 2.** Число хромосом в клетках листовой и корневой меристемы у размноженных *in vitro* клонов тополя сереющего и исходных деревьев

Сорт, клон	Число проанализированных клеток	Из них с числом хромосом, %			Уровень миксополидии, %
		2n = 2x = 38	2n = 3x = 57	Гипоанеуплоидные (46, 48, 50, 52)	
<b>Хоперский 1</b>					
Исходное дерево	95	24.2	69.5	6.3	30.5
Клон: 1	48	35.4	60.4	4.2	39.6
2	60	25.0	71.7	3.3	28.3
3 ( <i>in vitro</i> )	48	31.2	66.7	2.1	33.3
<b>Приярский</b>					
Исходное дерево	45	97.8	2.2	–	2.2
Клон ( <i>in vitro</i> )	54	98.2	1.8	–	1.8



**Рис. 3.** Метафазные пластинки: 1–5 – с триплоидным ( $2n = 3x = 57$ , модальным) и 6 – с диплоидным ( $2n = 2x = 38$ ) числом хромосом у исходного дерева Хоперский 1 (1) и его размноженных *in vitro* клонов (2–5). 1 – исходное дерево; 2 – клон № 1 (Конь-Колодезное лесничество); 3 – клон № 2 (Семилукский питомник); 4, 5 – клон № 3 (пробирочные культуры).



**Рис. 4.** Метафазные пластинки корневой меристемы микрорастений размноженного *in vitro* клона тополя Приярский: 1 –  $2n = 2x = 38$  (диплоид), 2 –  $2n = 3x = 57$  (триплоид).

лях, вышедших из-под сельхозпользования. Опыт заложен в трех повторностях, в качестве контроля представлен широко распространенный диплоид – тополь бальзамический. Для сравнения введены другие три- и диплоидные тополя. Опыт показывает, что сорт тополь Хоперский 1 может в год давать прирост до 25–30 м<sup>3</sup>/га (Сиволапов и др., 2010; Сиволапов, 2012).

Сорта тополей показали быстрый рост и высокую устойчивость к био- и абиотическим факторам среды. Показатели роста и продуктивности сортообразцов тополей в 26 лет на испытательном участке в Семилукском питомнике отражены в табл. 1.

Из таблицы видно, что в возрасте 26 лет тополь Хоперский 1 превышает другие тополя по диаметру на 11–19 см, по высоте – на 4–9 м. Для выяснения влияния генотипа на рост по диаметру выполнен однофактор-

ный дисперсионный анализ. Математическая обработка результатов опыта подтверждает достоверность различий:  $F_{\phi} > F_{st}$  ( $3.38 > 3.1$ ) при  $P = 0.05$ . Нулевая гипотеза отвергается: разница влияния сортовой принадлежности на рост по диаметру оказывается статистически достоверной, сила влияния составляет  $\eta^2_x = D_x/D_y = 508.38/868.86 = 0.59$  или 59 %.

Однофакторный дисперсионный анализ влияния генотипа тополя на рост по высоте также подтверждает достоверность различий, сила влияния составляет  $\eta^2_x = D_x/D_y = 9.23/51.88 = 0.16$  или 16 % (Сиволапов, 2012).

Размноженные *in vitro* клоны тополя Хоперский 1 и Приярский сохранили уровень плоидности и миксоплоидии, присущие исходным деревьям. Как и у исходного аллотриплоидного дерева тополя Хоперский 1, в соматической ткани растений микроузмно-

**Таблица 3.** Генотипы исследованных образцов рода *Populus* по локусам ORPM14, ORPM202, ORPM206, ORPM220

№ образца	Образец (число хромосом)	ORPM14	ORPM202	ORPM206	ORPM220
1	Тополь белый (2n)	146/146	190/190	193/193	186/186
2	То же	146/146	190/190	193/193	186/186
3	>>	146/146	190/187	193/193	186/186
4	>>	146/146	190/187	193/193	186/186
5	>>	146/146	190/190	193/193	186/186
6	>>	146/146	190/190	193/193	186/186
7	>>	146/146	190/187	193/193	186/186
8	>>	146/146	190/190	193/193	186/186
9	>>	146/146	190/187	193/193	186/186
10	Осина (2n)	150/150	193/190	193/190	186/186
11	То же	146/146	190/190	193/193	186/178
12	Тополь х осина (2n)	146/146	190/184	193/190	186/186
13	То же	146/146	190/184	193/190	186/186
14	>>	146/146	190/184	193/190	186/186
15	>>	146/146	187/187	193/190	186/178
16	>>	146/146	190/184	193/190	186/186
17	>>	146/146	190/184	193/190	186/186
18	Тополь сереющий Хоперский 1 (3n)	146/146/146	190/187/184	193/193/190	186/186/178
19	То же	146/146/146	190/187/184	193/193/190	186/186/178
20	>>	146/146/146	190/187/184	193/193/190	186/186/178
21	Тополь сереющий Приярский (2n (3n))	146/146/146	190/187	196/193/190	186/186/178
22	Э. С.-38 Воронежский гигант (3n)	150/150/142	187/184/184	208/199/193	222/222/194
23	Триплоид № 2 (Гуляевой) клон № 9 (3n)	162/154	187/184/184	208/199/193	222/222/194
24	Триплоид № 2 (Гуляевой) клон № 4 (3n)	162/154	187/184/184	208/199/193	222/222/194
25	Тетраплоид тополя бальзамического (4n)	154/154/ 154/154	187/187/ 187/184	205/205/ 196/196	222/222/ 222/194

женных клонов преобладали клетки с триплоидным набором хромосом  $2n = 3x = 57$  с частотой встречаемости 60.4–71.7 % (табл. 2, см. рис. 1). На долю диплоидных клеток ( $2n = 2x = 38$ ) приходилось 24.2–35.4 %. Отмечено незначительное количество (2.1–6.3 %) гипоанеуплоидных клеток с числом хромосом  $2n = 46, 48, 50, 52$ . В целом во всех проанализированных образцах уровень миксоплоидии (доля клеток с отклоняющимся от модального триплоидного набора хромосом) был сходным – 28.3–39.6 % (Машкина и др., 2010, 2011).

Исходное дерево тополя Приярского и его клон (находящийся в пробирочной культуре) являются диплоидами ( $2n = 2x = 38$ ) с незначительным уровнем миксоплоидии (1.8–2.2 %). Наряду с клетками, имеющими модальное диплоидное число хромосом (от 97.8 до 98.2 %), встречается незначительное ко-

личество (1.8–2.2 %) триплоидных клеток (см. табл. 2, рис. 3, 4).

С помощью подобранных микросателлитных праймеров и проведенного ДНК-анализа установлены уникальные многолокусные комплексные генотипы исследованных образцов осины, диплоидных и ряда триплоидных гибридов – тополь белый × осина (табл. 3, 4).

Образцы тополя белого представлены всего тремя клонами: 1) идентичными оказались образцы 1, 2, 5, 6, 8; 2) имеющими другой генотип – образцы 3, 4, 7. Для триплоидных гибридов тополей примененный метод показал высокую эффективность в подтверждении триплоидности, о чем свидетельствует наличие у одного и того же образца трех аллелей по использованным микросателлитным локусам. При этом образцы 18–20 (Хоперский 1) оказались идентичными, как и

**Таблица 4.** Генотипы исследованных образцов рода *Populus* по локусам WPMS17, WPMS16, WPMS19, WPMS20

№ образца	Образец (число хромосом)	WPMS17	WPMS16	WPMS19	WPMS20
1	Тополь белый ( $2n$ )	122/122	172/172	195/189	210/210
2	То же	122/122	172/172	195/189	210/210
3	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
4	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
5	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
6	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
7	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
8	>>	122/122	172/172	195/189	210/210
9	>>	122/122	172/172	195/195	210/210
10	Осина ( $2n$ )	131/131	166/157	234/210	222/222
11	То же	125/125	172/163	225/222	222/216
12	Тополь × осина ( $2n$ )	128/125	169/166	222/198	210/210
13	То же	128/125	172/163	222/198	222/210
14	>>	128/125	175/160	222/198	210/210
15	>>	128/125	175/169	219/198	210/210
16	>>	128/125	175/169	198/192	210/210
17	>>	128/125	175/169	198/192	210/210
18	Тополь сереющий Хоперский 1 ( $3n$ )	125/125/125	184/175/169	198/192/180	210/210/210
19	То же	125/125/125	184/175/169	198/192/180	210/210/210
20	>>	125/125/125	184/175/169	198/192/180	210/210/210
21	Тополь сереющий Приярский ( $2n$ ( $3n$ ))	131/125/125	184/175/169	222/219/192	222/222/222
22	Э. С-38 Воронежский гигант ( $3n$ )	146/140/137	154/148/139	213/213/192	210/210/210
23	Триплоид № 2 (Гуляевой) клон № 9 ( $3n$ )	146/140/137	154/148/139	213/213/192	210/210/210
24	Триплоид № 2 (Гуляевой) клон № 4 ( $3n$ )	146/140/137	154/148/139	213/213/192	210/210/210
25	Тетраплоид тополя бальзамического ( $4n$ )	137/137/ 137/137	142/142/ 139/139	222/198/ 198/198	212/212/ 212/212

образцы 23–24 (триплоид Гуляевой), что подтверждает клональное происхождение этих образцов.

Таким образом, осуществлены подбор и тестирование микросателлитных локусов для генетической паспортизации посадочного материала тополя и осины. Все локусы, использованные при генотипировании представителей рода *Populus*, проявили достаточно высокую степень полиморфизма и могут быть рекомендованы для использования в паспортизации как уже существующих плантационных культур и архивов клонов, так и отобранного для закладки нового посадочного материала.

Генотипы предоставленных для анализа пяти молодых растений-клонов тополя сереющего Хоперский 1 оказались полностью идентичными генотипу маточного дерева № 1 (образец № 18).

В качестве примера ПЦР-анализа на рис. 5 показана изменчивость по локусу WPMS17.

Таким образом, генетическая паспортизация показала в целом высокую эффективность диагностики видов, индивидуальных генотипов и клонов внутри видов, а также гибридов на основе генных маркеров полиморфизма микросателлитной ДНК. Молекулярно-генетические анализы по принадлежности к тому или иному клону можно получить в течение одной рабочей недели.

Образцы тополя белого различались по локусам ORPM202 и WPMS19 и не проявляли изменчивости по локусам ORPM14,

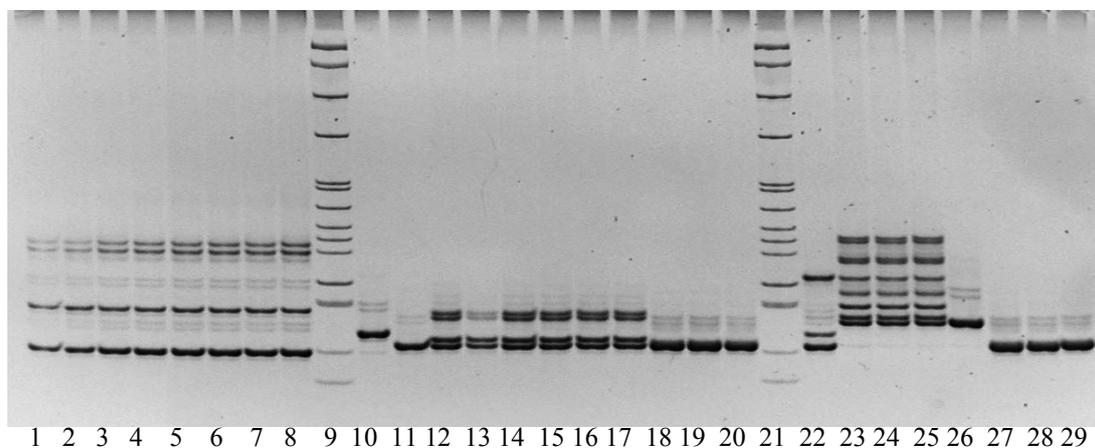
ORPM206, ORPM220, WPMS16, WPMS17 и WPMS20. Оба образца осины были изменчивы по всем восьми локусам. У гибридов тополь белый × осина выявлены варианты, характерные для каждого из видов. У три- и тетраплоидных образцов обнаружено перераспределение количества амплифицируемых фрагментов ДНК в зависимости от дозы аллелей, составляющих их генотипы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из авторов данной статьи А. И. Сиволаповым в 1976 г. были отобраны, а затем и зарегистрированы впервые в России сорта тополя сереющего для промышленного разведения. В ходе комплексных исследований установлено, что они являются миксоплоидами с наличием в соматической ткани триплоидных клеток, ценность которых заключается в том, что они обеспечивают высокую продуктивность в сочетании с адаптивностью к различным экологическим условиям, а также высокие технические свойства древесины.

Наличие триплоидных клеток установлено с помощью цитологического анализа и генетической паспортизации по отдельным специально подобранным микросателлитным локусам. Математическая обработка подтвердила значительное влияние генотипа тополей на их рост по диаметру и высоте.

Эти сорта тополя не плодоносят, с трудом или совсем не размножаются черенкованием



**Рис. 5.** Изменчивость по локусу WPMS17. 1–8 – тополь белый; 9, 21 – маркер длины pBR322 HpaII; 10, 11 – осина; 12–17 – гибриды тополь белый × осина; 18–20, 27–29 – тополь сереющий Хоперский 1; 22 – тополь сереющий Приярский; 23 – Э. С.-38 Воронежский гигант; 24 – триплоид № 2 клон № 9; 25 – триплоид № 2 клон № 4; 26 – тетраплоид тополя бальзамического.

и хорошо размножаются только с помощью биотехнологии *in vitro*. Данная технология имеет большие перспективы как за рубежом, так и в России при создании целевых лесных плантаций с заданными свойствами древесины для целлюлозно-бумажного производства и прессования древесины (Сиволапов, 2012; Сиволапов и др., 2014).

В будущем актуальными вопросами для исследований станут выявление и изучение локусов-маркеров, отвечающих за отдельные хозяйственно ценные признаки древесины, что возможно с помощью методов молекулярно-генетического анализа.

*Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: Современное состояние и проблемы развития», подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов».*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

А. с. на селекционное достижение № 44340 Тополь Приярский / А. И. Сиволапов, Воронежская гос. лесотехническая академия. По заявке № 9464178, 2007.

Вересин М. М., Царев А. П. К итогам сортоиспытания тополей в Воронежской области // Генетика, селекция и интродукция лесных пород. Сб. науч. тр. Воронеж, 1974. Вып. 1. С. 31–42.

Машкина О. С., Политов Д. В., Белоконь М. М., Белоконь Ю. С., Табацкая Т. М., Сиволапов А. И. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая характеристика клонов тополя сереющего (*Populus canescens* Sm.), полученных с использованием технологии *in vitro* // Сб. тезисов Междунар. конф. «Проблемы популяционной и общей генетики», посвящ. 75-летию со дня рождения акад. Ю. П. Алтухова. М.: Цифровичок, 2011. С. 113–114.

Машкина О. С., Сиволапов А. И., Табацкая Т. М. Цитогенетическая паспортизация размноженных *in vitro* клонов тополя сереющего // Генетика, селекция, семеноводство и воспроизводство древесных пород: мат-

лы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня рождения проф. М. М. Вересина. Воронеж: ВГЛТА, 2010. С. 23–37.

Патент на селекционное достижение № 118. Тополь *Populus L.* Хоперский 1 / Патентообладатель А. И. Сиволапов, Воронежская государственная лесотехническая академия. Зарегистрировано в Государственном реестре охраняемых селекционных достижений 17.12.2001 г.

Сиволапов А. И. Тополь сереющий. Генетика, селекция, размножение. Воронеж: ВГУ, 2005. 157 с.

Сиволапов А. И. Теория и практика системных исследований генетики, селекции и размножения тополей в ЦЧР // Изв. вузов. Лесн. журн. 2008. № 6. С. 80–82.

Сиволапов А. И., Сиволапов В. А., Машкина О. С. Результаты испытания новых сортов тополя // Достижения и проблемы лесной генетики и селекции (к 40-летию НИИЛГиС): сб. науч. тр. Воронеж: НИИЛГиС, 2010. С. 246–252.

Сиволапов В. А. Плантационное лесоразведение быстрорастущих пород в лесостепи с использованием биотехнологии *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук по специальности: 06.03.01. Воронеж: ВГЛТА, 2012.

Сиволапов В. А., Сиволапов А. И., Благодарова Т. А. Плантационное лесовыращивание березы, ольхи и тополя с помощью биотехнологии *in vitro*. LAP LAMBERT Acad. Publ. Saarbrückern, Germany. 2014. С. 129.

Smulders M. J. M., Van der Schoot J., Arens P., Vosman B. Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.) // Molecular Ecology Notes. 2001. V. 1. P. 188–190.

Stettler R. F., Bradshaw H. D., Heiman P. E., Hincley T. M. Biology of *Populus* and its implications for management and conservation. Ottawa, Ontario, Canada: NRC Research Press, 1996. 539 p.

Van der Schoot J., Pospzkova M., Vosman B., Smulders M. J. M. Development and characterization of microsatellite markers in black poplar (*Populus nigra* L.) // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 101. P. 317–322.

## **Cytological, Molecular-Genetic and Silvicultural-Selection Research of Polyploid Poplars**

**A. I. Sivolapov<sup>1</sup>, D. V. Politov<sup>2</sup>, O. S. Mashkina<sup>3</sup>, M. M. Belokon<sup>2</sup>,  
V. A. Sivolapov<sup>4</sup>, Y. S. Belokon<sup>2</sup>, T. M. Tabatskaya<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> *Voronezh State Academy of Forestry and Technology  
Timiryazev str., 8, Voronezh, 394087 Russian Federation*

<sup>2</sup> *N. I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences  
Gubkin str., 3, Moscow, 119991 Russian Federation*

<sup>3</sup> *Voronezh State University  
Universitetskaya Ploschad', 1, Voronezh, 394006 Russian Federation*

<sup>4</sup> *Branch of the Russian Centre for Forest Protection  
Centre for Forest Protection of Voronezh Region*

*Lomonosov str., 105, Voronezh, 394087 Russian Federation*

<sup>5</sup> *All-Russian Scientific and Research Institute for Forest Genetics, Breeding and Biotechnology  
Lomonosov str., 105, Voronezh, 394087 Russian Federation*

E-mail: [aleksey-sivolapov@yandex.ru](mailto:aleksey-sivolapov@yandex.ru), [dmitri\\_p@inbox.ru](mailto:dmitri_p@inbox.ru), [olga\\_mashkina@yahoo.com](mailto:olga_mashkina@yahoo.com),  
[belokon@vigg.ru](mailto:belokon@vigg.ru), [vladimir-sivolapov@yandex.ru](mailto:vladimir-sivolapov@yandex.ru), [yuri\\_b@vigg.ru](mailto:yuri_b@vigg.ru)

The results of cytological, silvicultural and selection research and DNA analysis of polyploid poplars are discussed in the article. Poplar clones were studied for productivity, the number of chromosomes, selection and testing of microsatellite loci for genetic certification of planting material. The study showed a high diagnostic performance of species, of individual genotypes and clones within species and hybrids on the basis of gene markers of polymorphism of microsatellite DNA.

**Keywords:** *poplar, aspen, polyploids, the number of chromosomes, DNA analysis, microsatellite loci, genetic passportization, productivity of poplar cultures.*