

В.А. Волков, Г.В. Калько

**АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ
В ПОПУЛЯЦИЯХ *PICEA ABIES* (L.) Н. KARST.
И *PICEA OBOVATA* LEDEB.**

Введение. Процессы генезиса хвойных лесов интенсивно изучаются с использованием методов молекулярного маркирования. Многочисленные исследования базируются на анализе полиморфизма микросателлитных локусов (SSR, Simple Sequence Repeats) [Scotti et al., 2002; Achere et al., 2004; Rungis et al., 2004], которые рассматриваются в качестве наиболее полиморфной и воспроизводимой системы кодоминантных молекулярных маркеров.

Попытки выявления внутривидовой популяционной структуры для видов ели европейской и сибирской предпринимались неоднократно [Мельникова и др., 2012; Эккарт и др., 2014, Потоккина и др., 2012]. Как правило, они проводились с использованием небольшого числа ядерных микросателлитных локусов, поэтому строго очерченной дифференциации популяций внутри ареала установить не удавалось. Сообщалось, что популяции ели крупных географических регионов скорее различаются по частоте встречаемости аллелей микросателлитов, чем по наличию отдельных «регион-специфичных» аллелей, которые были бы свойственны конкретным географическим выборкам.

Недавно, в работе 2016 г. Tsuda et al. показали, что вопрос успешного выявления популяционной структуры ели на протяжении всего ареала зависит от количества исследуемых микросателлитных локусов и размера исследуемой выборки. В этой статье авторы проанализировали полиморфизм 10 микросателлитных локусов у 1299 деревьев из 102 географических популяций, что позволило им очертить границы распространения ели сибирской и европейской, а также выделить ареалы распространения северной и южной семьи ели европейской.

В 2018–2020 гг. ФБУ «СПбНИИЛХ» осуществлял проект по разработке мультиплексных панелей микросателлитных локусов для оценки генетического разнообразия ели европейской на Европейской части РФ [Калько и Кузьмина 2018]. В настоящей работе авторы использовали микросателлитные локусы, входящие в эти панели, для сравнения генети-

ческой структуры четырех популяций ели, собранных с Европейской части страны и в Сибири.

Цели и задачи. В цели исследования входило установить возможность использования микросателлитных маркеров для определения видовых различий между елью европейской и сибирской (*Picea abies* (L.) Н. Karst. и *Picea obovata* Ledeb.), а также оценить степень генетической обособленности региональных популяций ели на территории Европейской части РФ.

Методика исследования. Для микросателлитного анализа использовали образцы ДНК ели европейской из популяций Северо-Запада Европейской части Российской Федерации и ели сибирской из Красноярского края, Томской, Иркутской, Кемеровской и Тюменской областей (табл. 1). ДНК выделяли методом с использованием СТАВ [Bousquet et al., 1999] из образцов хвои ели, собранных сотрудниками ФБУ «Рослесозащита» в 2013–2016 гг.

Таблица 1

Происхождение образцов хвои ели, использованных в работе

Origin of needle samples assed in the study

Область	Лесничество / лесхоз, уч. лесничество, населенный пункт	Координаты, с.ш.	Координаты, в.д.	Название выборки (год сбора образцов)	Кол-во образцов, шт.
Новгородская область	Хвойнинское, Песькое	58,94°	34,38°	Песь (2016)	30
Вологодская область	Тотемское, Тотемское	59,95°	42,78°	Тотемская (2013)	30
Нижегородская область	Шахунское, Полетаевское	57,51°	46,70°	Шахунская (2013)	30
Тюменская область	Тобольское, Карагинское	58,04°	68,58°	Тобольская (2016)	6
Томская область	Верхнекетское, Ягоднинское	58,28°	84,74°	Нибегская (2016)	6
Красноярский край	Тюхтетское, Тюхтетское сельское	56,53°	89,31°	Тюхтетская (2014)	6
Иркутская область	Заларинское, Черемшанское	53,13°	101,28°	Хор-Тагнанская (2016)	6
Кемеровская область	Ижморское, Красноярское	55,94°	86,52°	Инморская (2016)	6

Чистоту выделенной ДНК и ее концентрацию определяли спектрофотометрически на приборе SPECTROstar Nano, BMG Labtech (Германия). В работу были взяты образцы ДНК с соотношением поглощения при длинах волн 260 и 280 нм ($A_{260/280}$) от 1,7 до 1,99.

Качество ДНК также проверяли с помощью электрофореза в 1%-м агарозном геле в 0,5-кратном трис-боратном буфере (0,5xTBE). Для визуализации результатов использовали интеркалирующие красители: бромистый этидий или SybrGreen I для гелей. Красители добавляли в охлажденный приблизительно до 60 °С гель в рекомендуемых производителем концентрациях. Фиксацию результатов электрофореза проводили, используя систему визуализации ChemiDoc MP, BioRad, США.

В работе использовали ядерные SSR-локусы, охарактеризованные в табл. 2.

Таблица 2

Характеристика SSR-локусов, использованных в работе

Characteristics of SSR loci assed in the study

№ п/п	Локус	Мотив	Размер (п.н.)	T _a (°C)	Число аллелей N _a	Литературный источник
1	WS0092.A19	(AC) ₉	213–221*	53	4	[Rungis et al., 2004]
2	SpAGG3	(GA) ₂₄	136	57	17	[Pfeiffer et al., 1997]
3	PAAC23	(GT) ₁₄	266–314	58	3	[Scotti et al., 2000]
4	UAPgAG105	(TG) ₁₆	167–175*	56	7	[Eusemann et al., 2014]
5	SpAGC1	(TC) ₅ TT(TC) ₁₀	103	57	8	[Pfeiffer et al., 1997]
6	Pa_41	(CTG) _n	176–183	62	5	[Fluch et al., 2011]
7	WS0092.M15	(TCC) ₆	204–216	53	1	[Rungis et al., 2004]
8	PAAC19	(CT) ₂₃ CAA (TG) ₁₂	141–207	53	5	[Scotti et al., 2000]
9	UAPgGT8	(CA) ₂₀	190–245*	58	23	[Eusemann et al., 2014]
10	Pa_36	(CGG) _n	178–200	62	5	[Fluch et al., 2011]
11	Pa_44	(GGA) _n	274–293	62	7	[Fluch et al., 2011]
12	Pa_28	(TCG) _n	148–162	62	8	[Fluch et al., 2011]

Примечание. * Указаны размеры аллелей для вида *Picea glauca*. Данные, представленные в таблице, указаны на основании литературных источников.

ПЦР проводили в термоджакетах CFX96, C1000 и T100, BIO-RAD, США. Реакционная смесь в объеме 15 мкл содержала 1х готовую смесь для ПЦР qPCRmix-HS фирмы Евроген (Россия), 0,1–0,3 мкмоль прямого меченого флуоресцентной краской FAM, JOE (HEX) или ROX и немеченого обратного праймера и 40–50 нг геномной ДНК. Программа амплификации включала 1 цикл денатурации (95 °C – 5 мин), 35 циклов (95 °C – 45 с, Ta °C (табл. 2) – 45 с, 72 °C – 90 с), 1 цикл элонгации (72 °C – 10 мин). Детекцию результатов ПЦР проводили на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 с помощью фрагментного анализа. Для определения длин фрагментов использовали размерный стандарт СД450 или СД600, Синтол. Ниже, на рис. 1 представлены примеры хроматограмм трех ядерных микросателлитных локусов.

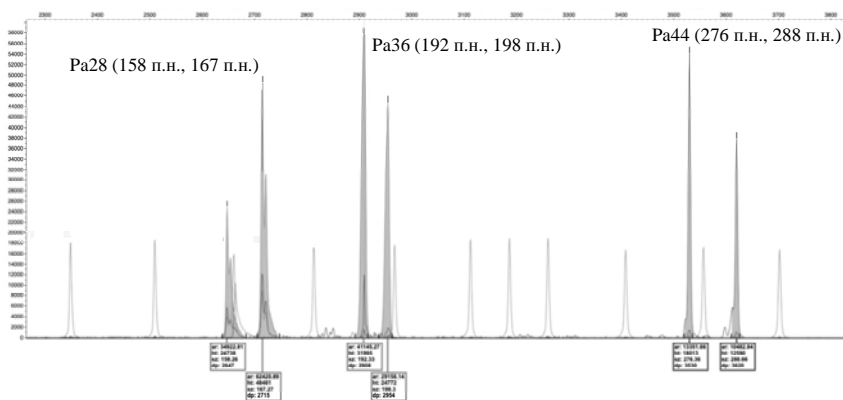


Рис. 1. Пример хроматограмм для трех SSR. Светло-серые пики – размерный стандарт СД450, темные пики – аллели микросателлитных локусов.

Fig. 1. An example of the resulting chromatogram of three SSR loci. Light gray peaks are the SD450 size standard, dark peaks are alleles of microsatellite loci.

Расчеты показателей внутри- и межпопуляционной изменчивости, генетических расстояний, и построение на их основе схем межпопуляционной дифференциации по SSR-локусам в изучаемых популяциях ели европейской был проведен с использованием надстройки для MS Excel GenAlEx 6.503, широко применяемой в генетических исследованиях для расчета популяционных характеристик [Peakall and Smouse, 2006].

В программе GenAlEx 6.503 были вычислены наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность по стандартным формулам. Для измерения генетической отдаленности между субпопуляциями авторами была использована F-статистика, предложенная S. Wright [Wright, 1951, 1965]. Основная идея F-статистики заключается в том, что те субпопуляции в пределах ареала вида, которые не скрещиваются между собой (обособлены), будут иметь разные специфические частоты аллелей [Hart and Clark, 1997].

Дифференциацию частот аллелей среди популяций оценивали, используя AMOVA (Analysis of Molecular Variance). Достоверность индекса фиксации F_{ST} при попарных сравнениях генетической обособленности популяций определяли по результатам 9999 пермутаций.

Полученные данные микросателлитного анализа были проанализированы с использованием программного обеспечения STRUCTURE 2.3.4. [Pritchard et al., 2000]. При анализе набора данных не указывалось распределение по популяциям. Анализ производился со следующими показателями: burn-in period 50 000, iterations 500 000, correlated allele frequencies, admixture model.

Результаты и обсуждение исследований. В исследовании было проанализировано 12 SSR локусов, общее число проанализированных аллелей составило 156. Среднее число аллелей на локус составило 7,8; средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_o) по всем маркерам составила 0,435; средняя ожидаемая гетерозиготность (H_e) по всем маркерам равна 0,629 (табл. 3). Значение F_{st} для каждого локуса варьирует от 0,01 до 0,182 и, в среднем, составило 0,081. Это свидетельствует о невысокой генетической дифференциации, что, вероятно, связано с произрастанием исследуемых популяций в зоне интрогрессивной гибридизации.

Таблица 3

Средние значения количества аллелей на локус, ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность во всех популяциях
Average values of allele number per locus, expected and observed heterozygosity in populations

		WS0092.A19	SpAGG3	PAAC23	UAPgAG105	SpAGC1	PAAC19
N	Mean*	28,500	27,250	28,000	27,000	24,500	23,500
	SE**	0,866	0,854	0,707	0,577	2,062	1,041
Na	Mean	9,250	11,500	7,500	4,000	10,500	13,250
	SE	0,250	0,957	1,258	0,000	2,327	1,843
Ho	Mean	0,592	0,397	0,354	0,398	0,172	0,569
	SE	0,057	0,117	0,057	0,039	0,088	0,095
He	Mean	0,822	0,867	0,767	0,479	0,795	0,833
	SE	0,021	0,009	0,038	0,024	0,043	0,016
		UAPgGT8	Pa_36	Pa_28	Pa_44	Pa_41	WS0092.M15
N	Mean	26,000	25,750	26,250	25,000	27,750	29,000
	SE	2,121	0,750	0,750	0,913	0,479	0,408
Na	Mean	17,000	3,250	4,750	3,250	4,000	5,250
	SE	0,913	0,479	0,750	0,479	0,707	1,181
Ho	Mean	0,415	0,297	0,538	0,960	0,300	0,234
	SE	0,121	0,057	0,094	0,001	0,063	0,053
He	Mean	0,902	0,294	0,593	0,542	0,352	0,300
	SE	0,014	0,048	0,034	0,020	0,047	0,068

Примечания. Mean * – средняя; SE ** – ошибка средней.

При проведении анализа генетической дифференциации популяций с использованием Structure 2.3.4 наиболее вероятное количество кластеров определялось по алгоритму, предложенному Evanno [Evanno et al., 2005], и оказалось равным двум (рис. 2).

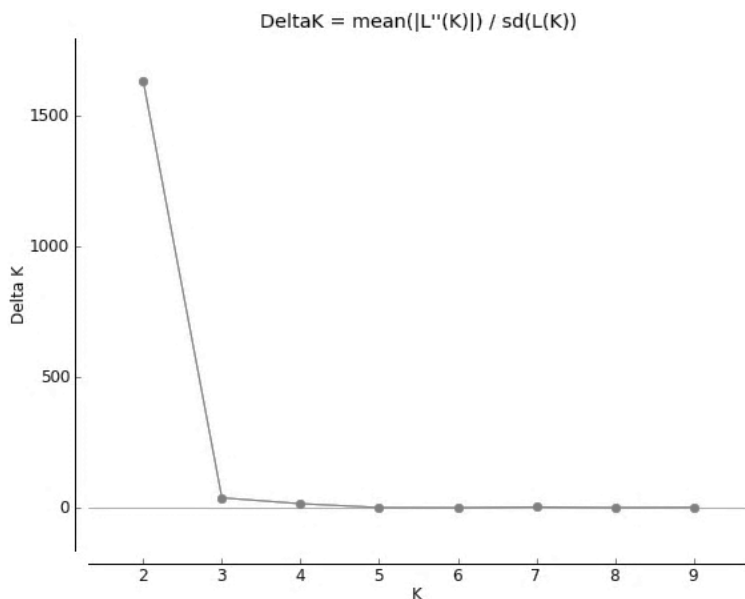


Рис. 2. Наиболее вероятное количество кластеров в изучаемой выборке по алгоритму Evanno [2005]

Fig. 2. The most probable number of clusters in the studied sample according to the Evanno algorithm [2005]

Согласно структурному анализу, явно обособлены популяции ели из Сибири, которые формируют отдельный генетический кластер (рис. 3). Однако как внутри европейского кластера, так и внутри сибирского наблюдается примесь генотипов, не свойственных для этих географических районов. При анализе структуры европейской популяции выявить достоверные различия, позволяющие разбить европейскую популяцию на отдельные кластеры, не удалось. Это говорит о том, что эти популяции не являются обособленными в пределах вида ели европейской.

Из рис. 3 также следует, что в составе европейских популяций ели можно встретить особей с явно гибридной природой. Это подтверждает

высказанное ранее предположение о массовом перемещении пыльцы из сибирского региона в западном направлении, в результате которого и возникла зона гибридизации двух видов на Восточно-Европейской равнине [Tollestrud et al., 2015]. Единственный образец типично европейского генотипа, выбивающийся из общей картины сибирского кластера, скорее свидетельствует о возможной технической ошибке на стадии подготовки проб. Согласно полученным результатам, анализ большой выборки с использованием панелей микросателлитов позволяет отличать в зоне интрогрессивной гибридизации относительно «чистые» формы *Picea abies* и возможные гибриды, выделенные на основании отнесения образца в тот или иной кластер в программе Structure (см. рис. 3, отмечены стрелками). Эти гибридные формы могли возникнуть в результате переопыления материнских генотипов ели европейской пыльцой или сибирской.

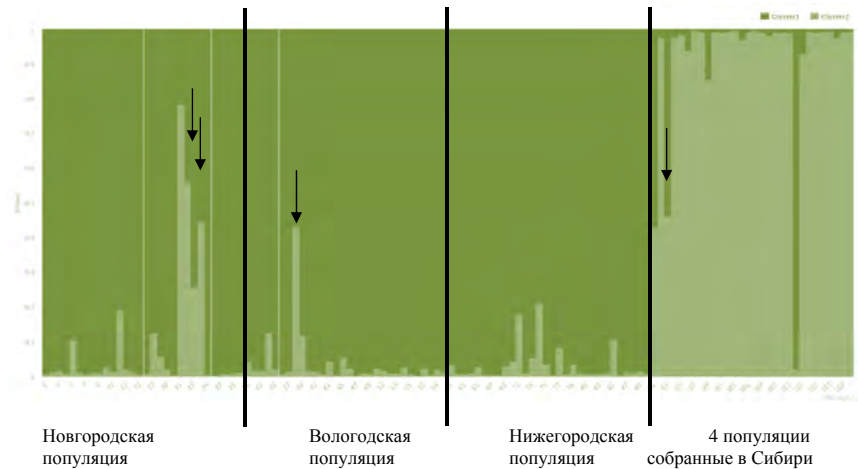


Рис. 3. Структура генетического разнообразия семи популяций *Picea*. Темный кластер – европейские популяции, светлый кластер – четыре популяции, собранные в Сибири. Стрелками обозначены возможные гибриды *Picea abies* и *Picea obovata*

Fig. 3. The structure of the genetic diversity of the four populations of *Picea*. Dark cluster – European populations, light cluster – Siberian populations

Результаты статистического анализа AMOVA показали достоверную генетическую обособленность только для образцов, происходящих из Сибири. При этом географическое происхождение образцов обуславливает

только 7% наблюдаемой изменчивости в выборке, в то время как индивидуальная изменчивость образцов объясняет остальные 92%.

Заключение и выводы. Проведенное исследование показало, что использование разработанной панели с большим количеством микросателлитных маркеров позволяет разделить выборку елей, собранных с европейской и азиатской части страны, на два генетических кластера, соответствующих двум видам *Picea*. Однако, поскольку отнесение конкретного образца к определенному кластеру осуществляется по вероятностным критериям, с учетом региональной частоты встречаемости аллелей, обнаруженных у данного образца, по силе диагностики маркирование ядерных SSR локусов уступает маркерам митохондриальной ДНК. Последние позволяют определить континентальное происхождение конкретного образца ели, например, по наличию специфичной вставки (делеции) во втором интроне гена *Nad1* [Потокина и др., 2015; Tsuda et al., 2016].

Использованная в анализе авторами линейка микросателлитных локусов может быть успешно использована для оценки и мониторинга генетического разнообразия лесных генетических ресурсов.

Благодарности. Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФБУ «СПбНИИЛХ» (№ 053-00012-21-00).

Библиографический список

Калько Г.В., Кузьмина М.В. Применение микросателлитных маркеров для оценки генетического разнообразия ели европейской // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2018. № 1. С. 32–47.

Мельникова М.Н. и др. Тестирование микросателлитных праймеров на разных популяциях евразийских елей *Picea abies* (L.) Karst. и *Picea obovata* Ledeb // Генетика. 2012. Т. 48. № 5. С. 660–660.

Потокина Е.К. и др. Использование маркеров оргanelльной днк для анализа филогеографии Восточноевропейской популяции ели европейской *Picea abies* (L.) Н. Karst // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т. 18. № 4/1. С. 818–830.

Потокина Е.К., Орлова Л.В., Вишневская М.С., Алексеева Е.А., Потокин А.Ф., Егоров А.А. Генетическая дифференциация популяций ели на северо-западе России по результатам маркирования микросателлитных локусов // Генетика популяций и эволюция. 2012. Т. X, № 2. С. 40–49. ISSN 1811–0932.

Экерт А.К., Семерикова С.А., Семерилов В.Л., Кравченко А.Н., Дымяшкова О.С., Ларионова А.А. Применение различных типов генетических маркеров для оценки уровня внутривидовой дифференциации ели сибирской // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 84–91. ISSN 2311-1410.

Acheré V. et al. A full saturated linkage map of *Picea abies* including AFLP, SSR, ESTP, 5S rDNA and morphological markers // Theoretical and Applied Genetics. 2004. Vol. 108, no. 8. P. 1602–1613.

Bousquet J., Simon L., Lalonde M. DNA amplification from vegetative and sexual tissues of trees using polymerase chain reaction // Canadian journal of forest research. 1990. Vol. 20, no. 2. P. 254–257.

Eusemann P. et al. Three microsatellite multiplex PCR assays allowing high resolution genotyping of white spruce, *Picea glauca* // Silvae Genetica. 2014. December. Vol. 53(5). P. 230–234. DOI 10.1515/sg-2014-0029

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // Molecular ecology. 2005. Vol. 14, no. 8. P. 2611–2620.

Fluch S. et al. Characterization of variable EST SSR markers for Norway spruce (*Picea abies* L.) // BMC Research notes. 2011. Vol. 4, no. 1. P. 1–6.

Hart D.L., Clark A.G. Principles of population genetics Sinauer associates Sunderland // Massachusetts. 1997. 116 p.

Peakall R.O.D., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular ecology notes. 2006. T. 6, no. 1. P. 288–295.

Pfeiffer A., Olivieri A.M., Morgante M. Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies*) // Genome. 1997. Vol. 40. P. 411–419.

Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155, no. 2. P. 945–959.

Rungis D. et al. Robust simple sequence repeat markers for spruce (*Picea* spp.) from expressed sequence tags // Theor. Appl. Genet. 2004. Vol. 109 (6). P. 1283–1294. ISSN 0040-5752.

Scotti I. et al. Microsatellite repeats are not randomly distributed within Norway spruce (*Picea abies* K.) expressed sequences // Genome. 2000. Vol. 43(1). P. 41–46. ISSN 0831-2796.

Scotti I. et al. Trinucleotide microsatellites in Norway spruce (*Picea abies*): their features and the development of molecular markers // Theoretical and Applied Genetics. 2002. Vol. 106, no. 1. P. 40–50.

Tsuda Y. et al. The extent and meaning of hybridization and introgression between Siberian spruce (*Picea obovata*) and Norway spruce (*Picea abies*): cryptic refugia as stepping stones to the west? // Molecular Ecology. 2016. Vol. 25, no. 12. P. 2773–2789.

Wright S. The genetical structure of populations // Annals of Eugenics. 1951. Vol. 15(4). P. 323–354. ISSN 0003-4800.168.

Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating // Evolution. 1965. Vol. 19. P. 395–420. Online ISSN 1558-5646

References

Acheré V. et al. A full saturated linkage map of *Picea abies* including AFLP, SSR, ESTP, 5S rDNA and morphological markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, vol. 108, no. 8, pp. 1602–1613.

Bousquet J., Simon L., Lalonde M. DNA amplification from vegetative and sexual tissues of trees using polymerase chain reaction. *Canadian journal of forest research*, 1990, vol. 20, no. 2, pp. 254–257.

Ehkart A.K. et al. The use of genetic markers of various types for evaluation of intraspecific differentiation level of the Siberian spruce. *Siberian Journal of Forest Science*, 2014. (In Russ.)

Eusemann, P. et al. Three microsatellite multiplex PCR assays allowing high resolution genotyping of white spruce, *Picea glauca*. *Silvae Genetica*, 2014. December, vol. 53(5), pp. 230–234. DOI 10.1515/sg-2014-0029.

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 2005, vol. 14, no. 8, pp. 2611–2620.

Fluch S. et al. Characterization of variable EST SSR markers for Norway spruce (*Picea abies* L.). *BMC Research notes*, 2011, vol. 4, no. 1, pp. 1–6.

Hart D.L., Clark A.G. Principles of population genetics Sinauer associates Sunderland. Massachusetts, 1997. 116 p.

Melnikova M.N. et al. Testing of microsatellite primers with different populations of Eurasian spruces *Picea abies* (L.) Karst. and *Picea obovata* Ledeb. *Russian journal of genetics*, 2012, vol. 48, no. 5, pp. 562–566. (In Russ.)

Peakall R.O.D., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 2006, vol. 6, no. 1, pp. 288–295.

Pfeiffer A., Olivieri A.M., Morgante M. Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* K.). *Genome*, 1997, vol. 40, pp. 411–419.

Potokina E.K. et al. Analysis of the polymorphism of organelle DNA to elucidate the phylogeography of Norway spruce in the East European Plain. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2015, vol. 5, no. 4, pp. 430–439. (In Russ.)

Potokina E.K. et al. Genetic differentiation of spruce populations in northwest Russia according to the results of microsatellite loci analysis. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2013, vol. 3, no. 5, pp. 352–360. (In Russ.)

Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, vol. 155, no. 2, pp. 945–959.

Rungis D. et al. Robust simple sequence repeat markers for spruce (*Picea* spp.) from expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet*, 2004, vol. 109 (6), pp. 1283–1294. ISSN 0040-5752.

Scotti I. et al. Microsatellite repeats are not randomly distributed within Norway spruce (*Picea abies* K.) expressed sequences. *Genome*, 2000, vol. 43 (1), pp. 41–46. ISSN 0831-2796.

Scotti I. et al. Trinucleotide microsatellites in Norway spruce (*Picea abies*): their features and the development of molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, vol. 106, no. 1, pp. 40–50.

Tsuda Y. et al. The extent and meaning of hybridization and introgression between Siberian spruce (*Picea obovata*) and Norway spruce (*Picea abies*): cryptic refugia as stepping stones to the west? *Molecular Ecology*, 2016, vol. 25, no. 12, pp. 2773–2789.

Wright S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 1951, vol. 15 (4), pp. 323–354. ISSN 0003-4800.168.

Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 1965, vol. 19, pp. 395–420. Online ISSN 1558-5646

Материал поступил в редакцию 30.09.2021

Волков В.А., Калько Г.В. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов в популяциях *Picea abies* (L.) Н. Karst. и *Picea obovata* Ledeb. // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2021. Вып. 237. С. 97–108. DOI: 10.21266/2079-4304.2021.237.97-108

Процессы генезиса хвойных лесов интенсивно изучаются с использованием методов молекулярного маркирования. Микросателлитные локусы рассматриваются в качестве наиболее полиморфной и воспроизводимой системы кодоминантных молекулярных маркеров. В цели исследования входило установить возможность использования микросателлитных маркеров для определения видовых различий между елью европейской и сибирской (*Picea abies* и *Picea obovata*), а также оценить степень генетической обособленности региональных популяций ели на территории Европейской части РФ. Исследование показало, что использование набора из двенадцати микросателлитных маркеров позволяет разделить выборку елей, собранных с европейской и азиатской частей страны, на два генетических кластера, соответствующих видам *Picea abies* и *Picea obovata*. Проанализированные в исследовании микросателлитные локусы могут быть использованы для оценки генетического разнообразия и географического происхождения ели европейской и сибирской.

Ключевые слова: микросателлитные маркеры, SSR, фрагментный анализ, *Picea abies*, *Picea obovata*.

Volkov V.A., Kalko G.V. Analysis of the polymorphism of microsatellite loci in *Picea abies* (L.) Н. Karst. and *Picea obovata* Ledeb populations. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotehniceskoj Akademii*, 2021, iss. 237, pp. 97–108 (in Russian with English summary). DOI: 10.21266/2079-4304.2021.237.97-108

The processes of genesis of coniferous forests are widely investigating using molecular markers. Many studies are based on the analysis of microsatellite loci, which are acknowledged as the most reproducible and polymorphic co-dominant molecular markers. This study is aimed to establish the possibility of using microsatellite markers to determine differentiation between Norway and Siberian spruce (*Picea abies* and *Picea obovata*). Another task of this research was to assess the degree of genetic isolation of regional spruce population in the territory of European part of the Russian Federation. This study shows that using a large number of microsatellite markers allows to divide the sample of spruce collected from European part of Russia and Siberia in two genetic clusters, corresponding to *Picea abies* and *Picea obovata*. The microsatellite loci analyzed in the study can be used to assess genetic diversity and geographic origin of spruce trees and determine the origin of wood and planting material of Norway and Siberian spruce.

Key words: microsatellite markers, SSR, fragment analysis, *Picea abies*, *Picea obovata*.

ВОЛКОВ Владимир Александрович – аспирант Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета имени С.М. Кирова. SPIN-код: 1473-9800 <https://orcid.org/0000-0002-2933-4456>.

194021, Институтский пер., д. 5, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vol-j@mail.ru

VOLKOV Vladimir A. – PhD student, St.Petersburg State Forest Technical University. SPIN-код: 1473-9800. <https://orcid.org/0000-0002-2933-4456>

194021. Institute per. 5. St. Petersburg. Russia, E-mail: vol-j@mail.ru

КАЛЬКО Галина Валентиновна – заведующий исследовательской лаборатории Санкт-Петербургского научно исследовательского института лесного хозяйства. SPIN-код: 1758-1621. <https://orcid.org/0000-0003-2664-9820>

194021, Институтский пр., 21, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: kagava0720@gmail.com

KALKO Galina V. – head of the research laboratory, Saint-Petersburg forestry research institute. SPIN-код: 1758-1621. <https://orcid.org/0000-0003-2664-9820>

194021. Institutsky per. 21. St. Petersburg. Russia. E-mail: kagava0720@gmail.com