



DOI 10.21178/2079-6080.2019.1.4
УДК 630.165+575.17

Микросателлитный анализ для оценки дифференциации популяций ели европейской на Северо-Западе России

© М.В. Гермак (Кузьмина), Г.В. Калько

Microsatellite analysis for the evaluation of differentiation between Norway spruce populations in the Northwest of Russia

M.V. Germak (Kuzmina), G.V. Kalko (Saint Petersburg Forestry Research Institute)

Differentiation of the Norway spruce populations is a very important task for conducting of efficient forestry exploitation. One of the approaches to distinguishing spruce populations is the analysis of genetic diversity in neutral codominant microsatellite loci. The article presents the results of using 9 previously selected stably amplifying polymorphic nuclear microsatellite loci of spruce to estimate the differentiation between 3 natural and 2 artificial (half sibs families) Norway spruce populations from geographically different areas in Northwest Russia. DNA extraction was performed using the CTAB method. The forward primers labeled with fluorescent dyes FAM, HEX and ROX and unmarked reverse primers were used in PCR. The detection of the results of amplification was performed using fragment analysis on genetic analyzer ABI PRISM 3500, Applied Biosystems. To determine the length of the fragments the size standard GeneScan™ 600 LIZ™ was used. Data analysis was performed with the GenAlEx 6.503, PopGene32, Micro-checker and FreeNA software. Four of the used loci (SpAGC2, SpAC1F7, UAPgAG150A and Pa_33) had the probability of null alleles in the studied populations above 5%. The marker system of five microsatellite loci without null alleles was proposed. The analysis of variance (AMOVA, GenAlEx 6.503) showed significant (5%) differentiation between 5 tested Norway spruce populations.

Cluster analysis (UPGMA) based on the values of Nei's genetic distance coefficients (D_N) found out a great closeness of natural populations. Both artificial populations differed from the natural ones and most strongly distinguished from each other ($D_N = 0,181$). Nevertheless, all the studied populations were grouped into one cluster.

Key words: Norway spruce, microsatellite analysis, differentiation of populations, AMOVA, fixation index FST, null alleles, allelic diversity

Микросателлитный анализ для оценки дифференциации популяций ели европейской на Северо-Западе России

М.В. Гермак (Кузьмина), Г.В. Калько

Дифференциация популяций ели европейской является весьма актуальной задачей для ведения эффективной лесохозяйственной деятельности. Одним из подходов для разграничения популяций ели служит анализ генетического разнообразия в нейтральных кодоминантных микросателлитных локусах. В статье изложены результаты использования отобранных ранее 9 стабильно амплифицирующихся полиморфных ядерных микросателлитных локусов ели для оценки дифференциации трех естественных и двух искусственных (семьи полусибсов) популяций ели европейской из географически различающихся мест произрастания на Северо-Западе России. Выделение ДНК проводили методом со СТАВ. В ПЦР использовали прямые праймеры, меченые флуоресцентными красителями FAM, HEX и ROX, и обратные немеченые праймеры. Детекцию результатов амплификации SSR-локусов проводили с использованием фрагментного анализа на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500, Applied Biosystems. Для определения длины фрагментов был использован внутренний размерный стандарт GeneScan™ 600 LIZ™. Анализ данных проводили с помощью программ GenAlEx 6.503, PopGene32, Micro-checker и FreeNA. Четыре из использованных локусов SpAGC2, SpAC1F7, UAPgAG150A и Pa_33 имели вероятность наличия нулевых аллелей в исследованных популяциях выше 5%. Предложена маркерная система из пяти микросателлитных локусов, которая не включает локусы с нулевыми аллелями и выявляет существенную по данным дисперсионного анализа межпопуляционную дифференциацию ели европейской. Доля межпопуляционной изменчивости (AMOVA, программа GenAlEx 6.503) в исследованных 3 естественных и 2 искусственных популяциях составляет 5%. Кластерный анализ (UPGMA) на основе значений коэффициентов генетических расстояний Неи (D_N) показывает большую близость естественных популяций. Обе искусственные популяции отличаются от естественных и в еще большей степени – друг от друга ($D_N = 0,181$). Тем не менее, все изученные популяции группируются в один кластер.

Ключевые слова: ель европейская, микросателлитный анализ, дифференциация популяций, AMOVA, индекс фиксации Fst, нулевые аллели, аллельное разнообразие

Гермак (Кузьмина), Марина Витальевна – лаборант-исследователь исследовательской лаборатории

Калько Галина Валентиновна – заведующий исследовательской лабораторией

E-mail: gkalko@spb-niilh.ru; kagava0720@gmail.com

ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»

194021, Санкт-Петербург, Институтский пр., 21

Тел.: (812) 552–80–21, факс: (812) 552–80–42