

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОТИПОВ *BETULA PENDULA* ROTH. *VAR. CARELICA* И *BETULA PUBESCENS* EHRH. С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ

Т. А. Гродецкая, С. Г. Ржевский, Т. П. Федулова, Т. М. Табацкая, О. С. Машкина

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики,
селекции и биотехнологии»

Поступила в редакцию 27.04.2018 г.

Аннотация. В данной работе приведены результаты генетической паспортизации селекционно-ценных образцов березы, осуществленной на основе микросателлитного анализа. Материалом служили полученные микроклональным размножением и культивируемые *in vitro* растения-регенеранты карельской березы и березы пушистой. На основе полученных данных проведен кластерный анализ и определены генетические расстояния между исследованными генотипами образцов. Установлено, что в одном кластере располагаются образцы Ia и An, представляющие собой карельскую березу, которая является разновидностью березы повислой, в другом - образцы березы пушистой, маркированные как 3пш1 и 3пш2. Результаты молекулярного анализа показывают возможность использования созданных генетических паспортов для выявления межвидовых различий березы, и подтверждают достоверность полученных данных. Клоны, относящиеся к одному виду, также демонстрируют некое отличие в генетических профилях, позволяющее определить степень их гетерогенности. Образцы карельской березы сходны по представленным аллельным профилям на 66,7 %, а березы пушистой – на 53,3 %. наличие гетерогенности составляет 33,3% для *Betula pendula* var. *carelica* и 46,7% для *Betula pubescens*. Одним из важных критериев, позволяющих оценивать генетическое разнообразие исследуемых деревьев, как на межвидовом, так и внутривидовом уровне, является уровень полиморфизма. Для его выявления необходимы маркеры, обладающие наибольшей дискриминационной способностью (информационным полиморфизмом). Данный показатель рассчитывается как отношение числа полиморфных полос к общему числу детектируемых фрагментов ДНК. Данный индекс показывает степень разнообразия ПЦР-продуктов для каждого локуса, и чем ближе его значение к единице, тем больше дискриминирующая способность маркеров данного локуса, позволяющая различать между собой клоны и виды. По результатам ПЦР-анализа рассчитан индекс полиморфизма для использованных маркеров, установлена степень гетерогенности образцов внутри вида. Из шести результативных SSR-локусов наибольшим значением индекса полиморфизма (PIC) характеризуются L7.1a, L4.4 (0,75) и L7.3 (0,8125). Они рекомендуются для использования в качестве селективных маркеров для генетической паспортизации березы.

Ключевые слова: микросателлитный анализ, генетическая паспортизация, береза, *Betula pendula* var. *carelica*, *Betula pubescens*.

В настоящее время для идентификации древесных растений успешно применяются методы молекулярной генетики, позволяющие описывать специфические профили каждого генотипа, основываясь на различных молекулярных маркерах. Метод генетической паспортизации широко распространен в лесном хозяйстве [1, 2].

Микроклональное размножение позволяет быстро и экономически эффективно клонировать образцы с необходимыми признаками, в особенности, если вегетативное размножение традиционными способами затруднено [3]. Поскольку клоны могут обладать значительным внешним сходством, необходимо располагать надежными методами их идентификации. В лесном хозяйстве данная проблема особенно важна, поскольку

внешний вид деревьев в значительной степени зависит от условий окружающей среды [4].

Одним из таких методов является генетическая паспортизация на основе микросателлитных маркеров (SSR, англ. Simple Sequence Repeats). Микросателлитные участки генома относятся к области некодирующей ДНК, и представляют собой стереотипно повторяющиеся короткие последовательности нуклеотидов [5]. Данные фрагменты практически случайным образом распределены по геному, они проявляют значительную нестабильность и могут мутировать, изменяя количество повторов [6].

Практика показывает, что анализ с использованием SSR-маркеров более прост в исполнении и более эффективен. Как мультиаллельные маркеры, микросателлиты оказались также наиболее действенными в выявлении генотипов с редкими и уникальными генетическими изменениями. В частности, микросателлитные маркеры, обладающие высокой скоростью мутации, могут быть использованы для оценки степени и характера генетических изменений, происходящих в процессе многократной репродукции образцов коллекции [7].

Береза является хозяйственно-ценным представителем древесных растений. В европейской части России наиболее часто встречаются такие виды как береза повислая *Betula pendula* Roth. и береза пушистая *Betula pubescens* Ehrh. Являясь лесообразующими видами, они имеют существенное экологическое и экономическое, а также эстетическое значение. Их ареалы в значительной степени перекрываются, однако береза пушистая несколько менее требовательна к экологическим условиям произрастания, и способна дальше продвигаться в северные широты. Различающиеся условия произрастания обоих видов во многом обусловили и большую изменчивость морфологических признаков [8]. Среди разновидностей березы повислой особое место занимает карельская береза *Betula pendula* var. *carelica*, отличительной чертой которой является высокодекоративная узорчатая текстура древесины. В связи с уникальностью и ограниченностью территории произрастания карельская береза высоко ценится на мировом рынке [9].

В настоящее время разработаны комплексы SSR-маркеров, предлагаемых для идентификации различных видов и сортов березы, для некоторых представителей составлены генетические карты [10]. Анализы с использованием микросателлитных локусов проводились на таких видах,

как береза плосколистная (*Betula platyphylla* Suk. var. *japonica*) [11], береза Максимовича (*Betula maximowicziana* Regel) [12], береза кустарниковая (*Betula humilis* Schrank.) [13], а также береза пушистая [14] и повислая [15].

Целью настоящего исследования являлась генетическая паспортизация селекционно-ценных образцов березы и оптимизация методики генотипирования с использованием микросателлитных маркеров. Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести ПЦР-анализ генотипов березы из коллекции длительного хранения *in vitro* с праймерами к микросателлитным локусам.
2. Составить матрицы мультилокусных генетических паспортов для четырех исследуемых образцов березы.
3. Провести кластерный анализ на основе полученных данных, оценить рассчитанные генетические расстояния для образцов разных видов.
4. Определить степень гетерогенности клонов внутри одного вида.
5. Оценить уровень полиморфизма содержащего микросателлитных локусов и сделать выводы об их применимости для генетической паспортизации.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В данном исследовании использовались образцы 4-х микроразмноженных клонов 35-40 летних деревьев карельской березы (характеризующихся декоративной узорчатой древесиной) и березы пушистой (продуктивных и устойчивых к засухе деревьев), поддерживаемых в составе коллекции длительного хранения *in vitro* (табл.1). Долговременное поддержание клонов осуществляется в условиях нормального роста и редкого (раз в 5-6 месяцев) субкультивирования на питательных средах без гормонов, что обеспечивает сохранение их биотехнологических параметров, генетических и селекционных особенностей маточных деревьев [16, 17].

Экстракция ДНК осуществлялась модифицированным ЦТАБ-методом [18]: в качестве детергента для разрушения клеточных стенок использовался буфер на основе цетилтриметиламмоний бромида. Оценка качества полученного препарата ДНК, степень его деградации, определялась при помощи электрофореза в 1 % агарозном геле (интеркалирующим красителем служил бромистый этидий), с последующей визуализацией в ультрафиолетовом излучении на трансиллюминаторе

«ТСП 2.0» (Vilber Lourmat, Франция). Праймеры к микросателлитным участкам ДНК для проведения ПЦР подбирались на основе литературных источников [14, 15], их характеристика приведена в таблице 2. Амплификация генетического материала исследуемых образцов проводилась на приборах «Терцик» (ДНК-Технология, Россия) и «CFX-1000» (Bio-Rad, США). Окончательная детекция продуктов ПЦР осуществлялась при помощи элеткрофореза в 3% агарозном геле и визуализации аналогичным методом.

Результат ПЦР-анализа по всем образцам и локусам вносился в таблицы в виде матрицы наличия/отсутствия ПЦР-продукта, далее при помощи программы «Statistica 10» проводился кластерный анализ полученных данных, составлялись дендрограммы генетических расстояний, демонстрирующие степень сходства и различия содержимого микросателлитных локусов у изученных образцов (использовался метод определения евклидовых расстояний) [16].

Дискриминационная способность микросателлитных маркеров оценивалась по алгоритму расчета информационного полиморфизма (Polymorphism information content – PIC), который определяется способностью маркера устанавливать полиморфизм в популяции в зависимости от числа обнаруживаемых аллелей и распределения их частот [17].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведения ПЦР селекционных образцов березы с 10-ю микросателлитными маркерами к локусам L021, L1.10, L2.3, L3.1, L3.4, L4.4, L5.4, L7.1a, L7.3, L13.1 были получены спектры продуктов амплификации, визуализированные на электрофореграммах.

Тестирование локусов L021, L3.1, L3.4, L13.1 L3.1 не выявило наличия каких-либо продуктов амплификации, что может свидетельствовать об отсутствии у проанализированных образцов данных локусов, либо необходимости дальнейшей оптимизации условий реакции ПЦР.

Таблица 1.

Образцы берез, использованные для паспортизации

№	Маркировка образца	Вид	Длительность хранения клона <i>in vitro</i> , лет
1	Ia	<i>Betula pendula</i> Roth. var. <i>carelica</i>	26
2	An	<i>Betula pendula</i> Roth. var. <i>carelica</i>	20
3	Зпш1	<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	3
4	Зпш2	<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	3

Таблица 2.

Характеристика микросателлитных локусов и праймеров для генотипов березы

	Локус	Последовательность праймера (5' – 3')	Повторяющийся мотив	Размер ПЦР-продукта
1	L1.10	ACGCTTTCTTGATGTCAGCC TCACCAAGTTCCTGGTGGAT	(AG) ₄ AA(AG) ₁₀	160–200
2	L2.3	CAGTGTGTTGGACGGTGAGAA CGGGTGAAGTAGACGGAAC	(AG) ₁₆	200–210
3	L3.1	CTCCTTAGCTGGCACGGAC CCCTTCTTCATAAAACCCCTCAA	(CT) ₃ CC(CT) ₂ CC (CT) ₁₃ AT(CT) ₅	220–250
4	L3.4	AACCCTCGTTTGGCTACTGA GAACAGTTACTAGTCAAACCTGAAAACC	(GTAT) ₃ (GT) ₅	250–270
5	L4.4	TTGAGATAGACGATAGAGGTAAAGCA AGGCAATTCTCCAATTTCTT	(AG) ₁₇	250–270
6	L5.4	AAGGGCACCTGCAGATTAGA AAAATTGCAACAAAACGTGC	(TC) ₂₆	230–270
7	L7.1a	GTTTTGGGTTTCCACTTCCA ACTGGTAATACCTTTACCAAGCC	(CT) ₁₂ CCTT(CT) ₄	150
8	L7.3	GGGGATCCAGTAAGCGGTAT CACACGAGAGATAGAGTAACGGAA	(GT) ₁₈ (GA) ₁₄	200–230
9	L7.4	TGAAACGAACGGAAGAGTTG ATACGCCAGACTTTCATCCG	(GA) ₇	240–250
10	L13.1	CACCACCACAACCACCATTA AACACCCCTTTGCAACAATGA	(CA) ₃ (GA) ₁₄	80–120
11	L021	GCCAAAGCCAACGCTAGTAA TCCTAGCCGAGAGAAGTTGC	(CT) ₁₃	190
12	Bo.F394	AATGCAGCATCTCTTACC CACGCAATAATATGGA	(TC) ₁₃	140–150

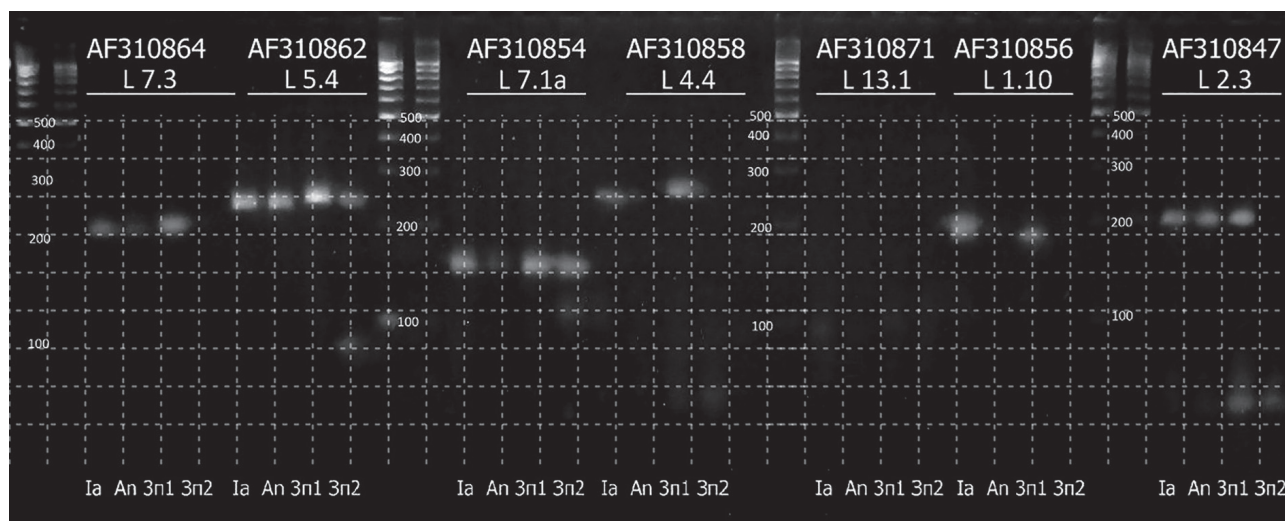


Рис. 1. Электрофорез ПЦР продуктов различных генотипов березы. Подписи на рисунке слева направо: вверху: название локусов – L7.3, L5.4, L7.1a, L4.4, L13.1, L1.10, L2.3; внизу: номер образца– Ia, An, 3пш1, 3пш2. Маркер длин ДНК (100 bp-1500 bp), шаг – 100 п.н.

По локусу L5.4 у различных образцов выявлено 3 аллеля длиной 140, 145 и 150 п.н. (рис. 1). Фрагмент размером 140 п.н. присутствует как у образца Ia, так и образца An. В то же время, ампликон 145 п.н. представлен только у номеров 3пш2, а 150 п.н. – у 3пш1, что является отличительным признаком данных генотипов.

В локусе L1.10 обнаружены 2 аллеля: фрагмент 95 п.н. представлен у Ia и An, ампликон 95 п.н. имеется только у 3пш1 и 3пш2. В локусах L2.3 и L4.4 выявлено по 1 аллелю (соответственно 100 и 150 п.н.), а также 4 и 2 ДНК-фрагментов у всех образцов березы соответственно. Также показано наличие 4 ампликонов по локусу L7.1a. Локус L5.4 продемонстрировал наличие 4 продуктов амплификации (105-130 п.н.).

На основании полученных результатов составлены генетические паспорта исследованных образцов березы, представленные в таблице 3 (выделены переменные участки).

Методом кластерного анализа образцов березы была построена дендрограмма генетических расстояний (рис. 2). На данной схеме в одном кластере располагаются образцы Ia и An, представляющие собой карельскую березу, которая является разновидностью березы повислой, в

другом – образцы березы пушистой, маркированные как 3пш1 и 3пш2. Таким образом, результаты молекулярного анализа показывают возможность использования генетических паспортов для выявления межвидовых различий березы, и подтверждают достоверность полученных данных.

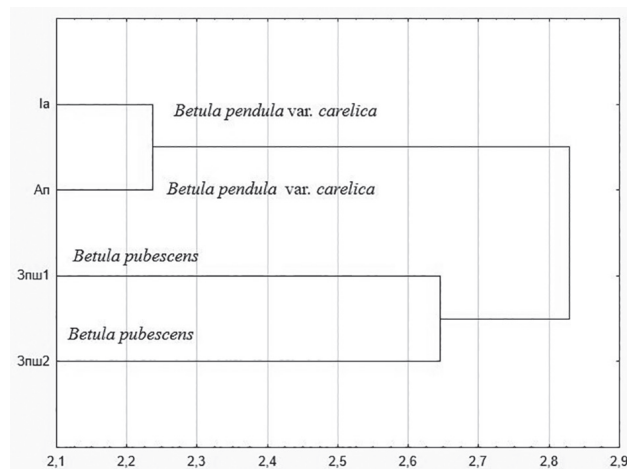


Рис. 2. Дендрограмма генетической дивергенции изученных образцов березы (значения на нижней оси – условное расстояние).

Стоит отметить, что клоны, относящиеся к одному виду, также демонстрируют некое отличие в генетических профилях, позволяющее опреде-

Таблица 3.

Генетические паспорта исследованных микроклонов березы из коллекции длительного хранения

Образец №/ Локус (п.н)	L1.10		L2.3	L4.4	L5.4			L7.1a				L7.3			
	90	95	100	170	140	145	150	60	65	70	75	105	110	120	130
Ia	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
An	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
3пш1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
3пш2	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1

лить степень их гетерогенности. При этом образцы карельской березы сходны по представленным здесь аллельным профилям на 66,7 %, а березы пушистой – на 53,3 %. Соответственно, наличие гетерогенности составляет 33,3% для *Betula pendula* var. *carelica* и 46,7% для *Betula pubescens*.

Одним из важных критериев, позволяющих оценивать генетическое разнообразие исследуемых деревьев, как на межвидовом, так и внутрипопуляционном уровне, является уровень полиморфизма. Для его выявления необходимы маркеры, обладающие наибольшей дискриминационной способностью (информационным полиморфизмом). Данный показатель рассчитывается как отношение числа полиморфных полос к общему числу детектируемых фрагментов ДНК.

Результаты оценки информационного полиморфизма (PIC) для изученных локусов приведены в таблице 4. Данный индекс показывает степень разнообразия ПЦР-продуктов для каждого локуса, и чем ближе его значение к единице, тем больше дискриминирующая способность маркеров данного локуса, позволяющая различать между собой клоны и виды.

Таблица 4.

Индекс информационного полиморфизма (PIC) исследованных микросателлитных локусов

Локус	L1.10	L2.3	L4.4	L5.4	L7.1a	L7.3
PIC	0,5	0	0,75	0,625	0,75	0,8125

По приведенным результатам локусы L4.4, L7.1a и L7.3 показали наиболее высокое значение полиморфизма (0,75-0,8125) и рекомендуются для генетической паспортизации и идентификации образцов березы. Локусы L5.4 и L1.10 обладают меньшим полиморфизмом (0,50-0,625) и могут быть использованы для анализа только совместно с другими маркерами: биоморфологическим, цитогенетическим, биохимическим.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе полученных результатов исследования сделаны следующие выводы:

1. В результате проведения амплификации ДНК исследуемых образцов с 10 маркерами к микросателлитным локусам, положительный результат (наличие продукта хотя бы в одном образце) продемонстрировали 6 локусов.

2. Результаты кластерного анализа показывают соответствие данных генетических паспортов биологической природе анализируемых образцов: растения, относящиеся к одинаковым видам, имеют сходные генетические профили.

3. Сравнение аллельных профилей клонов, относимых к одному виду, показывает наличие гетерогенности значением 33,3% для образцов карельской березы и 46,7% для березы пушистой.

4. Из шести результативных SSR-локусов наибольшим значением индекса полиморфизма (PIC) характеризуются L7.1a, L4.4 (0,75) и L7.3 (0,8125), они рекомендуются для использования в качестве селективных маркеров для генетической паспортизации березы.

В целом можно заключить, что использование микросателлитных маркеров является удобным и результативным методом для генетической паспортизации, успех ее осуществления определяется грамотным подбором праймеров и оптимизацией режима ПЦР-амплификации, а для интерпретации полученного результата удобно использовать кластерный анализ и другие методы биоинформатики. Однако следует учесть, что составленные с помощью данного метода дендрограммы не дают полноценного представления о филогенетических связях исследуемых генотипов, поскольку отображают степень сходства по исследованным локусам, количество которых относительно невелико. Для уточнения родственных связей различных клонов и сортов требуется учет данных по другим генетическим маркерам. Использование большего количества локусов в анализе позволит статистически нивелировать возможные единичные ошибки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов О.Ю., Пантелеев С.В., Гончарова Л.В., Спиридович Е.В., Тарасевич А.В. // «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: материалы III международной конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского». ЦБС НАН Беларуси. Минск, 7–9 октября 2015, С. 255-258.
2. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Каган Д.И., Ковалевич О.А., Острикова М.Я., Пантелеев С.В., Ивановская С.И., Кулагин Д.В. // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 16-20.
3. Shestibratov K.A., Lebedev V.G., Miroshnikov A.I. // Biotechnology in Russia, 2008, No 5, pp.1-34.
4. Ziegenhagen B., Fladung M. // Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement, 2005, pp. 413-429. DOI: 10.1007/b137756.
5. Politov D.V., Belokon M.M., Y.S. Belokon Y.S., Polyakova T.A., Shatokhina A.V., Mudrik E.A.,

Azarova A.B., Filippov M.V., Shestibratov K.A. // International Journal of Plant Genomics, 2015, 11 p.

6. Weber J.L., May P.E. // American Journal Human Genetics, 1989, No. 44, pp. 388-396.

7. Стрельченко П.П., Митрофанова О.П., Конарев А.В. // Аграрная Россия, 2004, № 6. С. 3-9.

8. Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты). Москва, Наука, 2004, 183 с.

9. Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Рендаков Н.Л. // Экологическая генетика, 2012, Т. 10. № 1, С. 34-37.

10. Pekkinen M., Varvio S., Kulju K. // Genome, 2005, Vol. 48, Iss. 4, pp. 619-625. DOI: 10.1007/s11032-016-0450-6.

11. Wu B., Lian C., Hogetsu T. // Molecular Ecology resources, 2002, Vol. 2, Iss. 4, pp. 413-415. DOI: 10.1007/s10310-016-0528-3.

12. Ogyu K., Tsuda Y., Sugaya T, Yoshimaru H., Ide Y. // Molecular Ecology resources, 2003, Vol. 3, Iss. 2, pp. 268-269. DOI: 10.1007/s10592-008-9694-y.

13. Jadwiszczak, K.A. Banaszek A., Jablon'ska, E., Sozinov O.V. // Plant System Evolution, 2011, No 297, pp. 147-156. DOI: 10.1515/biocr-2015-0004.

14. Truong C., Palmé A.E., Felber F., Naciri-Graven Y. // Molecular Ecology Resources, 2005, No 5, pp. 96-98. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2004.00848.x.

15. Kulju K.K.M. // Molecular Ecology Notes, 2004, No 4, pp. 471-473.

16. Машкина О.С., Буторина А.К., Табацкая Т.М. // Генетика, 2011. Т. 47. № 8. С. 1073-1080.

17. Табацкая Т.М., Машкина О.С. // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов, 2017. №19. С. 185-189.

18. Doyle J.J. // Phytochemistry Bull, 1987. No19, pp. 11-15.

19. Стебуал Ж., Мейданис Ж. Введение в вычислительную молекулярную биологию. Москва-Ижевск, НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2007, 420 с.

20. Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. // Сельскохозяйственная биология, 2015, Т. 50. №5. С. 571-578.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»

Гродецкая Т. А., Младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru.

Ржевский С. Г., Младший научный сотрудник лаборатории биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

E-mail: slavaosin@yandex.ru.

Федулова Т. П., доктор биологических наук. Ведущий научный сотрудник

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Табацкая Т. М., Старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии

Тел. +7 (473) 253-92-52.

Машкина О. С., кандидат биологических наук, доцент. Заведующий лабораторией биотехнологии

E-mail: mashkinaos@mail.ru

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology

Grodetsky T. A., Junior Researcher of the Laboratory of Biotechnology

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru.

Rzhevsky S. G., Junior Researcher of the Laboratory of Biochemistry, Molecular Genetics and Physiology of Plants

E-mail: slavaosin@yandex.ru.

Fedulova T. P., PhD., DSci. Leading researcher

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Tabatskaya T. M., Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology

Tel. +7 (473) 253-92-52.

Mashkina O. S., PhD, Associate Professor. Head of the Laboratory of Biotechnology

E-mail: mashkinaos@mail.ru

IDENTIFICATION OF *BETULA PENDULA* ROTH. VAR. *CARELICA* AND *BETULA PUBESCENS* EHRH. GENOTYPES WITH THE USE OF MICROSATELLITE MARKERS

T. A. Grodetzkaya, S. G. Rzhevsky, T. P. Fedulova, T. M. Tabatskaya, O. S. Mashkina

Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology

Abstract. In the given work, results of genetic certification of breeding-valuable birch samples that has been carried out on the basis of the microsatellite analysis are presented. Plants-regenerants of Karelian birch and white birch obtained by microclonal multiplication and cultivated *in vitro* serve as an experiment material. Based on the obtained data, cluster analysis has been performed, and genetical distances between genotypes of the studied samples have been determined. It has been found that the samples Ia and An representing Karelian birch that is a variant of silver birch are located in one cluster, and the samples of white birch marked as 3mm1 and 3mm2 are located in another one. The molecular analysis results show possibility of using the created genetic passports to reveal interspecific birch differences, and confirm reliability of the obtained data. The clones belonging to the same species also demonstrate a certain difference in genetic profiles allowing evaluation of their heterogeneity degree. Samples have similarity in the presented allelic profiles of 66.7 % for the Karelian birch and 53.3 % for the white birch. Heterogeneity is 33.3 % for *Betula pendula* var. *carelica* and 46.7 % for *Betula pubescens*. Level of polymorphism is one of the important criteria allowing genetic diversity estimation of the trees under investigation both at interspecific and intrapopulation levels. For its revealing, the markers possessing the greatest discriminatory power (information polymorphism) are necessary. This index is calculated as the ratio of polymorphic bands' number to total number of detected DNA fragments. This index shows a diversity degree of PTSSR-products for each locus. And the closer its value gets to one, the more is discriminatory power of this locus markers that helps to distinguish clones and species among themselves. According to the PCR-analysis results, index of polymorphism for the used markers has been calculated, and intraspecific degree of samples heterogeneity has been determined. Of six productive SSR-loci, L7.1a, L4.4 (0.75) and L7.3 (0.8125) have the greatest index of polymorphism (PIC). They are recommended for use as selective markers for genetic certification of birch.

Keywords: microsatellite analysis, genetic certification, birch, *Betula pendula* var. *carelica*, *Betula pubescens*.

REFERENCES

1. Baranov O.Ju., Panteleev S.V., Goncharova L.V., Spiridovich E.V., Tarasevich A.V. «Problemy sohraneniya biologicheskogo raznoobrazija i ispol'zovaniya biologicheskikh resursov: materialy III mezhdunarodnoj konferencii, posvjashhennoj 110-letiju so dnja rozhdenija akademika N.V. Smol'skogo». CBS NAN Belarusi. Minsk, 2015, S. 255-258.
2. Padutov V.E., Baranov O.Ju., Kagan D.I., Kovalevich O.A., Ostrikova M.Ja., Panteleev S.V., Ivanovskaja S.I., Kulagin D.V. Siberian Journal of Forest Science, 2014, No 4, pp. 16-20.
3. Shestibratov K.A., Lebedev V.G., Miroshnikov A.I. Biotechnology in Russia, 2008, No 5, pp.1-34.
4. Ziegenhagen B., Fladung M. Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement, 2005, pp. 413-429. DOI: 10.1007/b137756.
5. Politov D.V., Belokon M.M., Y.S. Belokon Y.S., Polyakova T.A., Shatokhina A.V., Mudrik E.A., Azarova A.B., Filippov M.V., Shestibratov K.A. International Journal of Plant Genomics, 2015, 11 p.
6. Weber J.L., May P.E. American Journal Human Genetics, 1989, No. 44, pp. 388-396.
7. Strel'chenko P.P., Mitrofanova O.P., Konarev A.V. Agrarian Russia, 2004, № 6, pp. 3-9.
8. Vetchinnikova L.V. Bereza: voprosy izmenchivosti (morfo-fiziologicheskie i biokhimicheskie aspekty). Moskva, Nauka, 2004, 183 p.
9. Vetchinnikova L.V., Titov A.F., Topchieva L.V., Rendakov N.L. Jekologicheskaja genetika, 2012, Vol. 10. Iss. 1, pp. 34-37.
10. Pekkinen M., Varvio S., Kulju K. *Genome*, 2005, Vol. 48, Iss. 4, pp. 619-625. DOI: 10.1007/s11032-016-0450-6.

11. Wu B., Lian C., Hogetsu T. *Molecular Ecology resources*, 2002, Vol. 2, Iss. 4, pp. 413-415. DOI: 10.1007/s10310-016-0528-3.
12. Ogyu K., Tsuda Y., Sugaya T, Yoshimaru H., Ide Y. *Molecular Ecology resources*, 2003, Vol. 3, Iss. 2, pp. 268-269. DOI: 10.1007/s10592-008-9694-y.
13. Jadwiszczak., K.A. Banaszek A., Jabłon'ska, E., Sozinov O.V. *Plant System Evolution*, 2011, No 297, pp. 147-156. DOI: 10.1515/biorc-2015-0004.
14. Truong C., Palmé A.E., Felber F., Naciri-Graven Y. *Molecular Ecology Resources*, 2005, No 5, pp. 96-98. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2004.00848.x.
15. Kulju K.K.M. *Molecular Ecology Notes*, 2004, No 4, pp. 471-473.
16. Mashkina O.S., Butorina A.K., Tabackaja T.M. *Genetika*, 2011, Vol. 47, Iss. 8, pp. 1073-1080.
17. Tabackaja T.M., Mashkina O.S. Organizacija i reguljacija fiziologo-biohimicheskikh processov, 2017, No 19, pp. 185-189.
18. Doyle J.J. *Phytochemistry Bull*, 1987, No19, pp. 11-15.
19. Stebual Zh., Mejdani Zh. Vvedenie v vychislitel'nuju molekularnuju biologiju. Moskva-Izhevsk, NIC «Reguljarnaja i haoticheskaja dinamika», Institut komp'juternyh issledovanij, 2007, 420 p.
20. Chesnokov Ju.V., Artem'eva A.M. *Sel'skohozjajstvennaja biologija*, 2015, Vol. 50, Iss. 5, pp. 571-578.