

Научная статья

УДК 575.174.015.3

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.07

## Генетическое разнообразие естественных популяций сосны обыкновенной в северной части Республики Карелии

Евгения Владимировна Мельчакова<sup>1</sup>

Надежда Анатольевна Малеева<sup>2</sup>

**Аннотация.** Проанализировано генетическое разнообразие и структура 5 популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из северной части Республики Карелии с использованием 13 микросателлитных локусов. Установлено высокое аллельное разнообразие популяции сосны обыкновенной на исследованных участках, несмотря на то что по степени равномерности распределения аллельных вариантов внутри выборок все исследуемые популяции достаточно однородны. Результат AMOVA-анализа показал относительно невысокий уровень межпопуляционной дифференциации: внутривнутрипопуляционная изменчивость составляет 93 %, а межпопуляционная – 7 %. По результатам кластерного анализа, проведённого на основе матрицы генетических расстояний М. Неи, установлена популяционная структура *P. sylvestris* в северной части Карелии. Все изученные популяции подразделены на две большие группы.

**Ключевые слова:** *Pinus sylvestris* L., естественные популяции, генетическая структура, ПЦР, микросателлиты, генетическое разнообразие, EST-SSR.

**Для цитирования:** Мельчакова Е.В., Малеева Н.А. Генетическое разнообразие естественных популяций сосны обыкновенной в северной части Республики Карелии. – Текст : электронный // Лесохозяйственная информация. 2023. № 1. С. 85–96. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.07

<sup>1</sup> Центр защиты леса Ленинградской области, филиал ФБУ «Рослесозащита», начальник отдела мониторинга состояния лесных генетических ресурсов (Санкт-Петербург, Российская Федерация), melchakovaev@rcfh.ru

<sup>2</sup> Центр защиты леса Ленинградской области, филиал ФБУ «Рослесозащита», инженер I категории отдела мониторинга состояния лесных генетических ресурсов (Санкт-Петербург, Российская Федерация), maleevana@bk.ru

Original article

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.07

## Genetic Diversity of Natural Populations of Scotch Pine in the Northern Part of the Republic of Karelia

**Eugenia V. Melchakova**<sup>1</sup>

**Nadezhda A. Maleeva**<sup>2</sup>

**Abstract.** In this study, we assessed the genetic diversity and population structure of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) using 13 microsatellite loci in 5 populations from the northern part of the Republic of Karelia. Our analysis showed a high allelic diversity of the Scots pine population in the studied areas. Although, in terms of the degree of uniformity of the distribution of allelic variants within the samples, all the studied populations are quite homogeneous. The result of the AMOVA analysis showed a relatively low level of interpopulation differentiation, within the population the variability is 93 %, and the interpopulation share of variability is 7 %. According to the results of cluster analysis carried out on the basis of the matrix of genetic distances by M. Nei, we revealed the population structure of *P. sylvestris* in the northern part of Karelia. All studied populations were divided into two large groups.

**Key words:** Scotch pine, natural populations, genetic structure, PCR, microsatellites, genetic diversity, EST-SSR.

**For citation:** Melchakova E., Maleeva N. Genetic Diversity of Natural Populations of Scotch Pine in the Northern Part of the Republic of Karelia. – Text : electronic // Forestry information. 2023. № 1. P. 85–96. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.07.

<sup>1</sup> Center for Forest Health of the Leningrad Region, Branch of the Federal Budgetary Institution Russian Center for Forest, Health Head of Department of Monitoring the State of Forest Genetic Resources (Saint Petersburg, Russian Federation), melchakovaev@rcfh.ru

<sup>2</sup> Center for Forest Health of the Leningrad Region, Branch of the Federal Budgetary Institution Russian Center for Forest, Engineer of 1st category of Department of Monitoring the State of Forest Genetic Resources (Saint Petersburg, Russian Federation), maleevana@bk.ru

## Введение

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – одна из наиболее распространённых и значимых хвойных пород Республики Карелии. Экологическое и экономическое значение этого вида стимулировало обширные исследования в отношении его происхождения, а также множество исследовательских проектов по морфологии и генетике. Однако эксплуатация лесов Карелии, наиболее активно происходившая в начале 1930-х гг. [1], привела к сильной трансформации и фрагментации коренных сосновых лесов в регионе [2]. Это не могло не отразиться на генетическом разнообразии и внутривидовой дифференциации современной популяции сосны обыкновенной в исследуемом регионе.

Естественные популяции сосны обыкновенной длительное время изучали с помощью изоферментного анализа, как правило, в пределах отдельных территорий. Проанализированные изоферментные системы имеют внутривидовую изменчивость менее 8 % [3–5]. Использование ДНК-маркеров в течение последних 10–15 лет привело к более глубокому пониманию структуры популяции и истории распространения сосны [6–9].

В настоящее время при изучении генетического разнообразия хвойных пород широко применяют EST-SSR-маркеры, поскольку они имеют двуродительское наследование, многочисленны в геноме сосны, кодоминантны и вариабельны [10]. Проводившиеся ранее молекулярно-генетические исследования в Карелии показали отсутствие какой-либо закономерности в изменчивости частот аллелей в направлении север–юг и мозаичный характер аллельного разнообразия, не выявлено четкой закономерности в распределении генетического разнообразия карельских популяций сосны обыкновенной [2].

Наше исследование дополняет предыдущие работы по изучению генетического разнообразия и популяционной структуры сосны обыкновенной с помощью ядерных микросателлитных локусов.

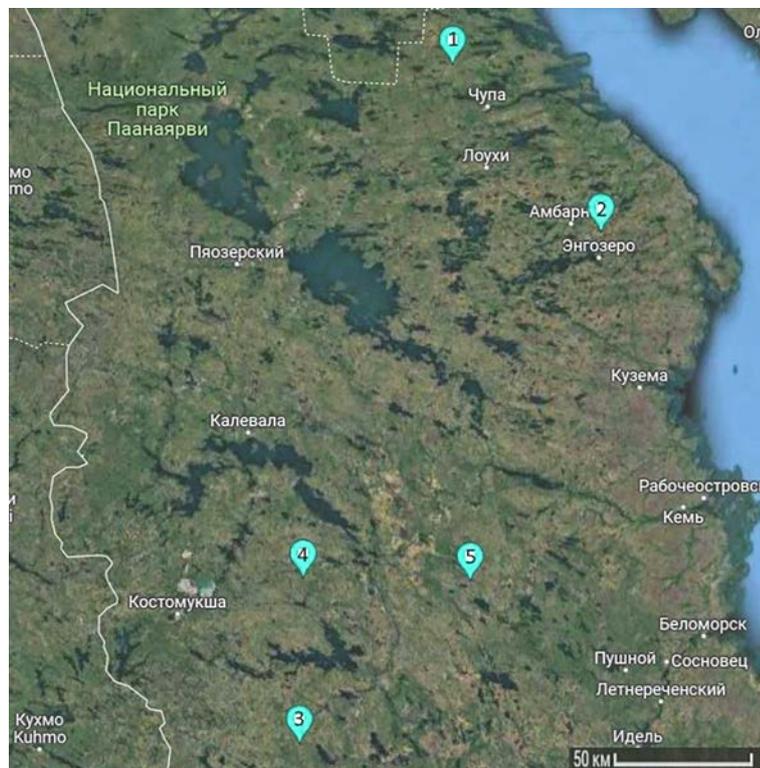
Цель исследования – оценка генетического разнообразия и структуры естественных популяций сосны обыкновенной в северной части Республики Карелии.

## Материалы и методы

Исследования проведены в 5-ти естественных популяциях сосны обыкновенной, расположенных в северной части Республики Карелии (табл. 1, рис. 1):

- ✓ близлежащий населенный пункт Чупа;
- ✓ сельский населенный пункт Амбарнское;
- ✓ поселок Муезерский;
- ✓ поселок Юшкозеро;
- ✓ поселок Кевязозеро.

Точки сбора образцов обусловлены разными условиями произрастания и достаточной удалённостью друг от друга (не менее 50 км), чтобы охватить разнообразные по микроклиматическим



**Рис. 1. КАРТА-СХЕМА МЕСТ СБОРА ОБРАЗЦОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ:**  
1 – ЧУПА, 2 – АМБАРНСКОЕ, 3 – МУЕЗЕРСКИЙ,  
4 – ЮШКОЗЕРО, 5 – КЕВЯЗОЗЕРО

**Таблица 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ТОЧЕК ОТБОРА ПРОБ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ КАРЕЛЬСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ**

НАСЕЛЁННЫЙ ПУНКТ	КООРДИНАТЫ, ГРАД.		КОЛ-ВО ОБРАЗЦОВ В ВЫБОРКЕ, ШТ.	ГОД СБОРА ОБРАЗЦОВ
	С. Ш.	В. Д.		
Чупа	66,41	32,78	30	2013
Амбарнское	65,87	33,95	30	2021
Муезерский	64,15	31,57	50	2016
Юшкозеро	64,72	31,60	50	2016
Кевятозеро	64,71	32,92	50	2016

условиям участки ареала сосны обыкновенной в северной части Карелии.

Выделение образцов геномной ДНК сосны осуществлялось с помощью набора GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma). Для анализа генетического разнообразия популяций сосны обыкновенной было отобрано 13 ядерных микросателлитных локусов (табл. 2).

Протоколы амплификации взяты из оригинальных источников [11–15]. Амплификацию

осуществляли на термоциклире T100™ (BioRad, США). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали набор ScreenMix-HS (ЗАО Евроген, Россия). Визуализация продуктов амплификации проводилась с помощью вертикального электрофореза в 6 %-м полиакриламидном геле с последующей окраской фрагментов ДНК красителем NonTox (AppliChem, Германия). В качестве стандартного маркера длин фрагментов использована ДНК плазмиды pBR322 (Сибэнзим, Россия), обработанная рестриктазой HPAII (Сибэнзим, Россия). Генотипирование проводили в программе Photo-Capt 12.4 (Vilber Lourmat, Франция).

Основные показатели генетической изменчивости: среднее число аллелей на локус ( $N_a$ ), среднее эффективное число аллелей ( $N_e$ ), наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $H_e$ ) гетерозиготность, коэффициент фиксации Райта  $F$ , критерий  $\chi^2$  для оценки соответствий наблюдаемых и ожидаемых распределений генотипов по правилу Харди–Вайнберга, анализ молекулярной дисперсии (AMOVA – Analysis of Molecular Variance), показатели

**Таблица 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ**

ЛОКУС (ПРАЙМЕР)	МОТИВ	ОЖИДАЕМЫЕ РАЗМЕРЫ АМПЛИКОНА, П.Н.	ТЕМПЕРАТУРА ОТЖИГА ( $T_c$ ), °C	ЛИТЕРАТУРНЫЙ ИСТОЧНИК
lw_isotig21953	(ATGGG) <sub>7</sub>	208	60	Fang et al., 2014 [12]
lw_isotig04306	(TCC) <sub>7</sub>	196	55	Fang et al., 2014 [12]
lw_isotig04195	(GAG) <sub>5</sub>	189	55	Fang et al., 2014 [12]
lw_isotig27940	(TGGA) <sub>5</sub>	231	55	Fang et al., 2014 [12]
PtTx 2123	(AGC) <sub>8</sub>	192–207 <sup>b</sup>	60–50↓	Elsik et al., 2000 [11]
PtTx 2146	(GAG) <sub>5</sub> ... (CAG) <sub>8</sub> CGG(CAG) <sub>7</sub> CGG(CAG) <sub>4</sub>	168–249	60–50↓	Elsik et al., 2000 [11]
PtTx 3107	(CAT) <sub>14</sub>	150–182	55–45↓1.0 °C	Liewlaksaneeyanawin et al., 2004 [14]
PtTx 3116	(TTG) <sub>7</sub> (TTG) <sub>5</sub>	122–226	55	Liewlaksaneeyanawin et al., 2004 [14]
PtTx 4001	(CA) <sub>15</sub>	201–224	60–50↓1.0 °C	Gonzalez-Martinez et al., 2004 [13]
Spag 7.14	(TG) <sub>17</sub> (AG) <sub>21</sub>	187–211	55–50↓1.0 °C	Gonzalez-Martinez et al., 2004 [13]
psy117	(TA) <sub>7</sub>	219–251	55	Sebastiani et al., 2012 [15]
psy142	(TC) <sub>9</sub>	171–179	55	Sebastiani et al., 2012 [15]
psy144	(CGG) <sub>5</sub>	166–175	55	Sebastiani et al., 2012 [15]

F-статистики Райта и генетические дистанции по Нею определяли с помощью программы GenAlEx 6.5 [16]. Оценку степени однородности распределения аллельных вариантов внутри выборки проводили с помощью индекса Шеннона (I) [17]. Построение дендрограммы на основе матрицы генетических расстояний осуществляли с помощью метода невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA [18]. Для обнаружения и исключения возможных вариантов ошибок генотипирования ядерных микросателлитных локусов использована программа Micro-Checker [19].

## Результаты и обсуждение

Анализ генетической структуры карельских популяций сосны обыкновенной показал, что все использованные микросателлитные локусы оказались полиморфны ( $P_{99\%} = 100\%$ ).

Всего выявлено 114 аллельных вариантов, из которых 18 % являются уникальными. Наибольшее аллельное разнообразие обнаружено в популяции Кевятозеро, которое в среднем составило

12 аллельных вариантов на локус (табл. 3). Наименьшее количество зафиксировано в популяциях Амбарнское и Чупа, которое составило по 8 аллелей на локус. Стоит отметить, что данные популяции находятся в самых северных точках исследования – 65° и 66° с. ш. соответственно. В целом по всем изученным выборкам аллельное разнообразие составляет  $10 \pm 0,565$  аллелей на локус, что показывает высокое аллельное разнообразие популяции сосны обыкновенной на исследованных участках (см. табл. 3).

Эффективное число аллелей ( $N_e$ ) варьирует от 4 до 7 на локус в среднем для всех рассматриваемых популяций. Наибольшие показатели эффективного числа аллелей отмечены для локусов PtTx 4001, PtTx2146, PtTx2146, lw\_isotig21953, которые являются наиболее характерными по частоте встречаемости.

По степени равномерности распределения аллельных вариантов внутри выборок все исследуемые популяции достаточно однородны: индекс Шеннона варьирует от 1,672 до 1,884, за исключением популяций Кевятозеро и Юшкозеро, для которых индекс Шеннона составляет 2,096 и 1,990 соответственно. Это указывает на более

**Таблица 3. Уровень генетического разнообразия в популяциях *P. sylvestris* в северной части Карелии**

Популяция	Локус	$N_A$	$N_E$	I	$H_o$	$H_e$	F
Кевятозеро	lw_isotig21953	15,000	9,164	2,405	0,204	0,891	0,771
	lw_isotig04306	10,000	5,532	1,899	0,688	0,819	0,161
	lw_isotig04195	5,000	3,441	1,416	0,458	0,709	0,354
	lw_isotig27940	15,000	8,711	2,376	0,220	0,885	0,751
	PtTx 3107	12,000	7,042	2,153	0,543	0,858	0,367
	PtTx 3116	9,000	4,439	1,744	0,097	0,775	0,875
	PtTx 4001	21,000	12,285	2,720	0,780	0,919	0,151
	PtTx2123	8,000	4,299	1,692	0,313	0,767	0,593
	PtTx2146	18,000	7,825	2,428	0,180	0,872	0,794
	psyl 17	16,000	11,246	2,544	0,898	0,911	0,014
	psyl 42	14,000	7,407	2,203	0,560	0,865	0,353
	psyl 44	8,000	4,662	1,681	0,102	0,786	0,870
	Spag 7.14	10,000	6,135	1,992	0,920	0,837	-0,099
	<b>Среднее</b>	<b>12,385</b>	<b>7,091</b>	<b>2,096</b>	<b>0,459</b>	<b>0,838</b>	<b>0,458</b>
	<b>Ошибка среднего</b>	<b>±1,269</b>	<b>±0,756</b>	<b>±0,109</b>	<b>±0,082</b>	<b>±0,018</b>	<b>±0,094</b>

ПРОДОЛЖЕНИЕ ТАБЛ. 3

Популяция	Лocus	$N_A$	$N_E$	I	$H_o$	$H_E$	F
Юшкозеро	lw_isotig21953	12,000	9,191	2,306	0,060	0,891	0,933
	lw_isotig04306	8,000	6,642	1,969	0,327	0,849	0,616
	lw_isotig04195	6,000	3,757	1,437	0,540	0,734	0,264
	lw_isotig27940	10,000	6,949	2,052	0,184	0,856	0,785
	PtTx 3107	9,000	6,859	2,032	0,320	0,854	0,625
	PtTx 3116	10,000	5,959	1,987	0,340	0,832	0,591
	PtTx 4001	18,000	11,737	2,630	1,000	0,915	-0,093
	PtTx2123	8,000	4,250	1,610	0,225	0,765	0,706
	PtTx2146	22,000	12,563	2,771	0,840	0,920	0,087
	psyl 17	11,000	7,278	2,141	0,480	0,863	0,444
	psyl 42	9,000	7,331	2,074	0,286	0,864	0,669
	psyl 44	3,000	1,994	0,731	0,020	0,499	0,960
	Spag 7.14	14,000	6,180	2,135	1,000	0,838	-0,193
	<b>Среднее</b>	<b>10,769</b>	<b>6,976</b>	<b>1,990</b>	<b>0,432</b>	<b>0,822</b>	<b>0,492</b>
	<b>Ошибка среднего</b>	<b>±1,378</b>	<b>±0,814</b>	<b>±0,143</b>	<b>±0,091</b>	<b>±0,031</b>	<b>±0,103</b>
Муезерский	lw_isotig21953	16,000	9,796	2,489	0,064	0,898	0,929
	lw_isotig04306	7,000	3,993	1,595	0,375	0,750	0,500
	lw_isotig04195	6,000	4,558	1,622	0,600	0,781	0,231
	lw_isotig27940	11,000	6,558	2,092	0,214	0,848	0,747
	PtTx 3107	9,000	6,252	1,951	0,292	0,840	0,653
	PtTx 3116	14,000	3,962	1,862	0,143	0,748	0,809
	PtTx 4001	22,000	16,234	2,913	0,860	0,938	0,084
	PtTx2123	7,000	3,256	1,382	0,118	0,693	0,830
	PtTx2146	16,000	6,766	2,220	0,128	0,852	0,850
	psyl 17	9,000	4,717	1,756	0,000	0,788	1,000
	psyl 42	12,000	8,322	2,235	0,592	0,880	0,327
	psyl 44	2,000	1,855	0,653	0,000	0,461	1,000
	Spag 7.14	8,000	4,582	1,716	0,571	0,782	0,269
	<b>Среднее</b>	<b>10,692</b>	<b>6,219</b>	<b>1,884</b>	<b>0,304</b>	<b>0,789</b>	<b>0,633</b>
	<b>Ошибка среднего</b>	<b>±1,465</b>	<b>±1,024</b>	<b>±0,153</b>	<b>±0,076</b>	<b>±0,033</b>	<b>±0,087</b>
Чупа	lw_isotig21953	10,000	5,678	1,980	0,200	0,824	0,757
	lw_isotig04306	6,000	3,986	1,545	0,586	0,749	0,217
	lw_isotig04195	6,000	3,657	1,433	0,517	0,727	0,288
	lw_isotig27940	9,000	5,263	1,875	0,467	0,810	0,424
	PtTx 3107	9,000	6,667	2,022	0,500	0,850	0,412
	PtTx 3116	10,000	4,931	1,871	0,357	0,797	0,552
	PtTx 4001	13,000	7,287	2,226	0,933	0,863	-0,082
	PtTx2123	4,000	1,772	0,818	0,103	0,436	0,763
	PtTx2146	16,000	9,836	2,501	0,700	0,898	0,221
	psyl 17	6,000	3,830	1,477	0,633	0,739	0,143
	psyl 42	7,000	4,462	1,670	0,586	0,776	0,244
	psyl 44	2,000	1,724	0,611	0,000	0,420	1,000

ОКОНЧАНИЕ ТАБЛ. 3

Популяция	Локус	$N_A$	$N_E$	$I$	$H_o$	$H_e$	$F$
	Spag 7.14	8,000	4,467	1,707	0,933	0,776	-0,203
	<b>Среднее</b>	<b>8,154</b>	<b>4,889</b>	<b>1,672</b>	<b>0,501</b>	<b>0,743</b>	<b>0,364</b>
	<b>Ошибка среднего</b>	<b>±1,024</b>	<b>±0,608</b>	<b>±0,145</b>	<b>±0,079</b>	<b>±0,041</b>	<b>±0,094</b>
Амбарнское	lw_isotig21953	15,000	9,474	2,462	0,433	0,894	0,516
	lw_isotig04306	6,000	3,315	1,443	0,733	0,698	-0,050
	lw_isotig04195	6,000	3,689	1,476	0,433	0,729	0,405
	lw_isotig27940	8,000	5,422	1,878	0,267	0,816	0,673
	PtTx 3107	9,000	6,164	1,957	0,367	0,838	0,562
	PtTx 3116	14,000	7,157	2,263	0,483	0,860	0,439
	PtTx 4001	9,000	2,841	1,436	0,759	0,648	-0,171
	PtTx2123	8,000	3,564	1,484	0,300	0,719	0,583
	PtTx2146	11,000	5,590	1,970	0,633	0,821	0,229
	Spag 7.14	10,000	7,229	2,094	0,967	0,862	-0,122
	psyl 17	10,000	5,233	1,917	0,833	0,809	-0,030
	psyl 42	8,000	5,389	1,823	0,600	0,814	0,263
	psyl 44	2,000	1,034	0,085	0,033	0,033	-0,017
	<b>Среднее</b>	<b>8,923</b>	<b>5,085</b>	<b>1,714</b>	<b>0,526</b>	<b>0,734</b>	<b>0,252</b>
	<b>Ошибка среднего</b>	<b>±0,937</b>	<b>±0,613</b>	<b>±0,163</b>	<b>±0,072</b>	<b>±0,062</b>	<b>±0,083</b>
<b>Общее значение по популяциям</b>		<b>10,185</b>	<b>6,052</b>	<b>1,871</b>	<b>0,445</b>	<b>0,785</b>	<b>0,440</b>
<b>Ошибка среднего</b>		<b>±0,565</b>	<b>±0,356</b>	<b>±0,065</b>	<b>±0,036</b>	<b>±0,018</b>	<b>±0,043</b>

Примечание.  $N_A$  – среднее число аллелей на локус,  $N_E$  – эффективное число аллелей на локус,  $I$  – индекс Шенона,  $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность,  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность,  $F$  – индекс фиксации.

неоднородное распределение аллелей по сравнению с другими исследуемыми популяциями.

Наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o = 0,445 \pm 0,036$ ) во всех рассматриваемых нами популяциях ниже ожидаемой ( $H_e = 0,785 \pm 0,018$ ). Исключение составляют локусы PtTx 4001 и Spag 7.14 для популяций Юшкозеро и Чупа, где наблюдаемая гетерозиготность выше ожидаемой.

Кроме того, во всех изучаемых популяциях наблюдается дефицит гетерозигот. Значения индекса фиксации ( $F$ ) находятся в диапазоне 0,252–0,633. Наиболее выраженный дефицит обнаружен у популяций Амбарнское ( $F = 0,252$ ) и Чупа ( $F = 0,364$ ). В наиболее равновесном состоянии по распределению генотипов согласно правилу Харди–Вайнберга находится популяция Муезерский. О недостатке гетерозигот в северной части карельских популяций сосны также

свидетельствуют показатели  $F$ -статистики Райта (табл. 4).

Так, значение индекса  $F_{IT} = 0,482 \pm 0,079$  свидетельствует о том, что в популяции присутствует дефицит гетерозигот. Предполагаем, что причиной избыточной гомозиготности популяций может быть эффект Валунда [20], когда при сильных различиях частот аллелей между популяциями доля гетерозигот уменьшается, даже если соотношение Харди–Вайнберга выполняется в каждой выборке, что ведёт к увеличению гомозигот. Но в отличие от инбридинга эффекту Валунда подвержена только частота гетерозигот исключительно в тех локусах, в которых имеется вариация аллельной частоты между субпопуляциями, когда при инбридинге может изменяться частота гетерозигот во всех локусах.

Значение индекса  $F_{IS} > 0$  (коэффициент инбридинга особей в субпопуляциях) указывает

**Таблица 4.** Значение F-статистики Райта для популяции сосны обыкновенной северной части Карелии

Лocus	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
lw_isotig21953	0,781	0,791	0,043
lw_isotig04306	0,299	0,333	0,047
lw_isotig04195	0,307	0,328	0,030
lw_isotig27940	0,679	0,694	0,044
PtTx 3107	0,523	0,533	0,020
PtTx 3116	0,646	0,665	0,052
PtTx 4001	-0,012	0,049	0,060
PtTx2123	0,687	0,727	0,128
PtTx2146	0,432	0,465	0,058
psyl 17	0,308	0,364	0,082
psyl 42	0,375	0,399	0,038
psyl 44	0,929	0,956	0,372
Spag 7.14	-0,072	-0,034	0,035
Среднее	0,453	0,482	0,078
Ошибка среднего	$\pm 0,082$	$\pm 0,079$	$\pm 0,026$



**Рис. 2.** Соотношение уровней внутривидового генетического разнообразия сосны обыкновенной северной части Карелии

на редукцию гетерозиготности из-за возможного самоопыления и в среднем для всех изученных выборок составляет  $0,453 \pm 0,082$ , хотя по отдельным локусам PtTx 4001 и Spag 7.14 редукция гетерозигот не отмечена.

Значение индекса  $F_{ST}$  –  $0,078 \pm 0,026$  (коэффициент инбридинга субпопуляций относительно всей популяции) указывает на слабую

дифференциацию популяций и высокий поток генов внутри субпопуляций.

Результат AMOVA-анализа показал, что большая часть общей генетической дисперсии, обнаруженной на основе исследования 13 микросателлитных локусов, приходится на изменчивость внутри популяций. Так, поток генов между особями внутри популяции – 48 %, а внутри индивидов (самоопыление) – 45 % (рис. 2). Таким образом, внутривидовая изменчивость составляет 93 %, а межпопуляционная – 7 %.

Для оценки уровня генетической дифференциации изучаемых популяций сосны обыкновенной проведены вычисления генетических дистанций М. Неи [21]. Результаты вычислений приведены на дендрограмме сходства, которая построена на основе матрицы генетических расстояний методом невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA [22] (рис. 3).

По результатам кластерного анализа популяций сосны обыкновенной можно выделить 2 большие группы. В состав самой большой группы ( $D_N = 0,16$ ) вошли 4 выборки – Муезерский, Амбарнское, Чупа и Юшкозеро. Эти популяции оказались генетически наиболее близкими, хотя внутри них можно выделить ещё одну более

обособленную подгруппу ( $D_N = 0,026$ ), состоящую из двух популяций – Чупа и Юшкозеро. В отдельную группу выделена популяция Кевятозеро, которая выделяется высоким уровнем генетической обособленности ( $D_N = 0,35$ ). Кроме того, эта популяция отличается самым большим аллельным разнообразием из всех изученных популяций.

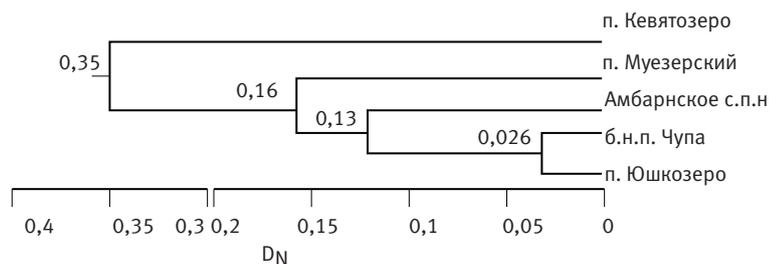
В целом выявленная с помощью 13 ядерных микросателлитных локусов популяционная структура сосны обыкновенной в северной части Республики Карелии свидетельствует о генетической близости исследованных популяций. Обособленность популяции Кевятозеро может отражать отличия в уровне генетического разнообразия этих популяций. Эти отличия могут быть связаны как с особенностями расселения сосны в послеледниковый период, так и с современными изменениями генетической структуры популяций, обусловленными такими условиями, как возрастающая мозаичность ареала сосны обыкновенной, восстановление лесов смешанным лесосеменным материалом, изменение климата.

## Выводы

С помощью 13 ядерных микросателлитных локусов проведен анализ генетической структуры 5 естественных популяций: Чупа, Амбарнское, Юшкозеро, Кевятозеро, Муезерский. Все использованные микросателлитные локусы полиморфны ( $P_{99\%} = 100\%$ ) во всех популяциях и пригодны для использования в целях генетической паспортизации.

Всего обнаружено 114 аллелей. Наибольшее аллельное разнообразие выявлено в популяции Кевятозеро ( $N_a = 12,385 \pm 1,269$ ), наименьшее – в популяциях Амбарнское ( $N_a = 8,923 \pm 0,937$ ) и Чупа ( $N_a = 8,1 \pm 1,024$ ).

Эффективное число аллелей ( $N_e$ ) варьирует от 4 до 7 на локус в среднем для всех рассматриваемых популяций. В целом по всем изученным



**Рис. 3. Дендрограмма сходства популяций сосны обыкновенной в северной части Республики Карелии по матрице генетических расстояний Неи ( $D_N$ )**

выборкам аллельное разнообразие составляет  $10 \pm 0,565$  аллелей на локус, что показывает высокое аллельное разнообразие популяции сосны обыкновенной на исследованных участках.

Степень равномерности распределения аллельных вариантов внутри выборок всех исследуемых популяций достаточно однородна, индекс Шенона варьирует от 1,672 до 1,884.

Уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_o$ ) во всех рассматриваемых популяциях ниже ожидаемой ( $H_e$ ) за исключением некоторых локусов (PtTx 4001 и Spag 7.14) в популяциях Юшкозеро и Чупа, где она оказалась выше ожидаемой.

Результат АМОВА-анализа показал относительно невысокий уровень межпопуляционной дифференциации, внутрипопуляционная изменчивость составляет 93 %, а межпопуляционная – 7 %.

На основе кластерного анализа по матрице генетических расстояний М. Неи выявлена популяционная структура *P. sylvestris* в северной части Карелии. Все изученные популяции разделены на 2 группы. В состав первой группы вошли 4 популяции – Муезерский, Амбарнское, Чупа и Юшкозеро. Среди этих популяций можно идентифицировать подгруппу, состоящую из двух популяций – Чупа и Юшкозеро. В отдельную группу выделяется популяция Кевятозеро, эта группа отличается высоким уровнем генетической обособленности ( $D_N = 0,35$ ) в сравнении со всеми изученными популяциями.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гаврилова, О.И. Лесовосстановление вырубок и продуктивность лесных культур хвойных пород Республики Карелия / О.И. Гаврилова. – Петрозаводск, 2012. – 351 с.
2. Ильинов, А.А. Состояние генофонда сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. в Карелии / А.А. Ильинов, Б.В. Раевский // Сибирский лесной журнал. – 2016. – № 5. – С. 45–54.
3. Генетическая изменчивость и дифференциация сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. на территории Карелии / Ю.А. Янбаев, В.В. Тренин, З.Х. Шигапов, Б.А. Чистяков, Р.М. Бахтиярова // Научные основы селекции древесных растений Севера. – Петрозаводск : КНЦ РАН, 1998. – С. 25–32.
4. Bilgen, V.B. Allozyme variations in six natural populations of scots pine (*Pinus sylvestris*) in Turkey / V.B. Bilgen, N. Kaya // Biologia. – 2007. – Т. 62. – № 6. – С. 697–703.
5. Genetic differentiation of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus mugo* aggr. populations in Switzerland / C. Neet-Sarqueda [et al.] // Silvae Genetica. – 1994. – Т. 43. – № 4. – С. 207–214.
6. Structure of *Pinus sylvestris* L. populations in Bulgaria revealed by chloroplast microsatellites and terpenes analysis: provenance tests / K.D. Naydenov [et al.] // Biochemical Systematics and Ecology. – 2005. – Т. 33. – № 12. – С. 1226–1245.
7. Genetic structure of montane isolates of *Pinus sylvestris* L. in a Mediterranean refugial area / J.J. Robledo-Arnuncio [et al.] // Journal of Biogeography. – 2005. – Т. 32. – № 4. – С. 595–605.
8. Studies of allele frequencies and inbreeding in Scots pine populations by the aid of the isozyme technique. – Text : electronic / D. Rudin [et al.]. – 1974. – Режим доступа: [www.thuenen.de](http://www.thuenen.de)
9. Multiple origins for Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) in Scotland: evidence from mitochondrial DNA variation / W.T. Sinclair, J.D. Morman [et al.] // Heredity. – 1998. – 80:233–240. DOI:10.1046/j.1365-2540.1998.00287.x
10. Калько, Г.В. ДНК-маркеры для оценки генетических ресурсов ели и сосны / Г.В. Калько // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. – 2015. – № 4. – С. 19–34.
11. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. / C.G. Elsik, V.T. Minihan, S.E. Hall, A.M. Scarpa, C.G. Williams // Genome. – 2000. – V. 43. – P. 550–555.
12. Development and characterization of 25 EST-SSR markers in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Pinaceae) / P. Fang [et al.] // Applications in plant sciences. – 2014. – Т. 2. – № 1. – DOI: 10.3732/apps.1300057.
13. Cross-amplification and sequence variation of microsatellite loci in Eurasian hard pines / S.C. González-Martínez [et al.] // Theoretical and applied genetics. – 2004. – Т. 109. – № 1. – С. 103–111.
14. Single-copy, species-transferable microsatellite markers developed from loblolly pine ESTs / C. Liewlaksaneeyanawin [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Т. 109. – № 2. – С. 361–369.
15. Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. / F. Sebastiani [et al.] // Conservation Genetics Resources. – 2012. – Т. 4. – № 2. – С. 231–234.
16. Peakall, R. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // Molecular Ecol. Notes. – 2006. – N 6. – P. 288–295.
17. Кузнецов, В.М. Информационно-энтропийный подход к анализу генетического разнообразия популяций (аналитический обзор) / В.М. Кузнецов // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2022. – Т. 23. – № 2. – С. 159–173.
18. Sneath, P.H.A. Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Classification / P.H.A. Sneath, R.R. Sokal. – San Francisco : W.H. Freeman and Co., 1973. – 549 p.
19. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data / C. Van Oosterhout, W. Hutchinson, D. Wills, P. Shipley // Molecular Ecol. Resources. – 2004. – № 4. – P. 535–538.
20. Wahlund, S. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen von Standpunkt der Vererbungslehre aus Betrachtet / S. Wahlund // Hereditas. – 1928. – V. 11. – P. 65–106.

21. Nei, M. Genetic distance between populations / M. Nei // Amer. Natur. – 1972. – V. 106. – P. 283–292.
22. Sinclair, W.T. Multiple origins for Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Scotland: evidence from mitochondrial DNA variation / W.T. Sinclair, J.D. Morman, R.A. Ennos // Heredity. – 1998. – T. 80. – № 2. – C. 233–240.

## References

1. Gavrilova, O.I. Lesovosstanovlenie vyрубok i produktivnost' lesnyh kul'tur hvoynyh porod Respubliki Kareliya / O.I. Gavrilova – Petrozavodsk, 2012. – 351 s.
2. Il'inov, A.A. Sostoyanie genofonda sosny obyknovennoj *Pinus sylvestris* L. v Karelii / A.A. Il'inov, B.V. Raevskij // Sibirskij lesnoj zhurnal. – 2016. – № 5. – S. 45–54.
3. Geneticheskaya izmenchivost' i differenciaciya sosny obyknovennoj *Pinus sylvestris* L. na territorii Karelii / Yu.A. Yanbaev, V.V. Trenin, Z.H. Shigapov, B.A. Chistyakov, R.M. Bahtiyarova // Nauchnye osnovy selekcii drevesnyh rastenij Severa. – Petrozavodsk : KNC RAN, 1998. – S. 25–32.
4. Bilgen, B.B. Allozyme variations in six natural populations of scots pine (*Pinus sylvestris*) in Turkey / B.B. Bilgen, N. Kaya // Biologia. – 2007. – T. 62. – № 6. – S. 697–703.
5. Genetic differentiation of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus mugo* aggr. populations in Switzerland / C. Neet-Sarqueda [et al.] // Silvae Genetica. – 1994. – T. 43. – № 4. – S. 207–214.
6. Structure of *Pinus sylvestris* L. populations in Bulgaria revealed by chloroplast microsatellites and terpenes analysis: provenance tests / K.D. Naydenov [et al.] // Biochemical Systematics and Ecology. – 2005. – T. 33. – № 12. – S. 1226–1245.
7. Genetic structure of montane isolates of *Pinus sylvestris* L. in a Mediterranean refugial area / J.J. Robledo-Arnuncio [et al.] // Journal of Biogeography. – 2005. – T. 32. – № 4. – S. 595–605.
8. Studies of allele frequencies and inbreeding in Scots pine populations by the aid of the isozyme technique. – Text : electronic / D. Rudin [et al.]. – 1974. – Rezhim dostupa:www.thuenen.de
9. Multiple origins for Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) in Scotland: evidence from mitochondrial DNA variation / W.T. Sinclair, J.D. Morman [et al.] // Heredity. – 1998. – 80:233–240. DOI:10.1046/j.1365-2540.1998.00287.x
10. Kal'ko, G.V. DNK-markery dlya ocenki geneticheskikh resursov eli i sosny / G.V. Kal'ko // Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyajstva. – 2015. – № 4. – S. 19–34.
11. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. / C.G. Elsik, V.T. Minihan, S.E. Hall, A.M. Scarpa, C.G. Williams // Genome. – 2000. – V. 43. – P. 550–555.
12. Development and characterization of 25 EST-SSR markers in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Pinaceae) / P. Fang [et al.] // Applications in plant sciences. – 2014. – T. 2. – № 1. – DOI: 10.3732/apps.1300057.
13. Cross-amplification and sequence variation of microsatellite loci in Eurasian hard pines / S.C. González-Martínez [et al.] // Theoretical and applied genetics. – 2004. – T. 109. – № 1. – S. 103–111.
14. Single-copy, species-transferable microsatellite markers developed from loblolly pine ESTs / C. Liewlaksaneeyanawin [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – T. 109. – № 2. – S. 361–369.
15. Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. / F. Sebastiani [et al.] // Conservation Genetics Resources. – 2012. – T. 4. – № 2. – S. 231–234.
16. Peakall, R. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // Molecular Ecol. Notes. – 2006. – N 6. – P. 288–295.
17. Kuznecov, V.M. Informacionno-entropijnyj podhod k analizu geneticheskogo raznoobraziya populyacij (analiticheskij obzor) / V.M. Kuznecov // Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka. – 2022. – T. 23. – № 2. – S. 159–173.
18. Sneath, P.H.A. Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Classification / P.H.A. Sneath, R.R. Sokal. – San Francisco : W.H. Freeman and Co., 1973. – 549 p.

19. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data / S. Van Oosterhout, W. Hutchinson, D. Wills, P. Shipley // *Molecular Ecol. Resources.* – 2004. – № 4. – P. 535–538.
20. Wahlund, S. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen von Standpunkt der Vererbungslehre aus Betrachtet / S. Wahlund // *Hereditas.* – 1928. – V. 11. – P. 65–106.
21. Nei, M. Genetic distance between populations / M. Nei // *Amer. Natur.* – 1972. – V. 106. – P. 283–292.
22. Sinclair, W.T. Multiple origins for Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Scotland: evidence from mitochondrial DNA variation / W.T. Sinclair, J.D. Morman, R.A. Ennos // *Heredity.* – 1998. – T. 80. – №. 2. – S. 233–240.