

## Изменчивость генетических nSSR-маркеров в антропогенно-нарушенных популяциях сосны обыкновенной Средней и Западной Сибири: методические аспекты генетического мониторинга

И. В. ТИХОНОВА<sup>1</sup>, А. К. ЭКАРТ<sup>2</sup>, А. Н. КРАВЧЕНКО<sup>2</sup>, К. Г. ХОМУТОВА<sup>1</sup>, Н. А. ТИХОНОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Западно-Сибирское отделение Института леса  
им. В. Н. Сукачева СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН)  
663082, Новосибирск, ул. Жуковского, 100/1  
E-mail: selection@ksc.krasn.ru

<sup>2</sup>Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН)  
660036, Красноярск, Академгородок, 50/28

Статья поступила 14.03.2023

После доработки 03.04.2023

Принята к печати 11.04.2023

### АННОТАЦИЯ

Представлены результаты анализа ядерных микросателлитных локусов (nSSR) для изучения генетического разнообразия естественных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в южной тайге и лесостепи Средней и Западной Сибири, подверженных влиянию пожаров и рубок разной интенсивности. Отобрано шесть полиморфных локусов, пригодных для изучения генетической изменчивости популяций вида в Сибири. Используемый нами набор генетических маркеров в сибирской части ареала вида ранее не исследовался. Проведены популяционно-генетические исследования 13 сибирских популяций сосны обыкновенной (26 выборок) на основе отобранных nSSR-маркеров (psyl57, PtTx2146, lw\_isotig04195, lw\_isotig04306, lw\_isotig10603, lw\_isotig21953), содержащих в сумме 62 аллеля, 15 из них встречались только в какой-либо одной (двух) популяции, и могут быть использованы для изучения пространственно-популяционной структуры вида и определения географических границ популяций. Установлено, что их изменчивость существенно выше по сравнению с изоферментными маркерами, они содержат значительное число редких и очень редких аллелей и достаточно информативны для целей генетического мониторинга и оценки влияния лесохозяйственной деятельности и других естественных и антропогенных повреждающих факторов на внутривидовое генетическое разнообразие и устойчивость одного из основных лесобразующих хвойных видов Сибири. При анализе сходства популяций вида по исследуемым маркерам выявлена определенная связь между генетической дифференциацией популяций и их географическим положением, часто не обнаруживаемая при использовании изоферментных маркеров.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная, генетическое разнообразие, ядерные микросателлитные маркеры, антропогенные факторы, Сибирь.

## ВВЕДЕНИЕ

На территории России пока сохраняется большая часть площади хвойных лесов Северной Евразии [Государственный доклад..., 2015], в основном естественного происхождения. В частности, ареал сосны обыкновенной здесь составляет 119 млн га, из них 32,7 % сосняков произрастают в европейской части страны, 67,2 % – в Сибири и на Дальнем Востоке (20 % – в Западной Сибири, 37 % – в Средней Сибири и 10,2 % – на Дальнем Востоке). Учитывая, что большая часть сосняков сосредоточена в Сибири, изучение генетического разнообразия популяций вида в этой части ареала особенно актуально.

К настоящему времени проведено большое число исследований сибирских популяций сосны обыкновенной на основе анализа изменчивости изоферментов [Гончаренко и др., 1993; Larionova, 2002; Потенко, 2004; Санников, Петрова, 2012; Семериков и др., 2014; Экарт и др., 2014; Зацепина и др., 2016; Тихонова и др., 2016]. Наиболее полно по всему ареалу изменчивость изоферментных локусов в популяциях сосны обыкновенной исследована С. А. Санниковым с соавторами [Санников, Петрова, 2012], однако в ней, как и в других работах автора, приведены только генетические дистанции Нея и нет стандартного статистического анализа и описания генетической изменчивости популяций сосны обыкновенной. В сибирской части ареала вида исследованы также молекулярные маркеры хлоропластного и митохондриального геномов [Семериков и др., 2014, 2015; Semerikov et al., 2018]. Исследования изменчивости ядерных микросателлитных локусов в России немногочисленны и включают отдельные популяции (части ареала) [Sebastiani et al., 2012; Ильинов, Раевский, 2015], в том числе в Сибири [Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023]. Однако работа по охвату большей части ареала и составлению лучших наборов nSSR-маркеров, пригодных для оценки генетического разнообразия сосны обыкновенной, на настоящий момент остается актуальной.

Недавние исследования изменчивости фрагментов митохондриальной ДНК (mtDNA) сосны обыкновенной, проведенные В. Л. Семериковым с соавторами [Семериков и др., 2015; Semerikov et al., 2018], свидетельствуют о длительной изоляции европейских популя-

ций вида от сибирских. Все сибирские популяции отличаются небольшим числом митотипов. Это создает определенные трудности использования данных маркеров для решения задач генетического мониторинга сибирских популяций вида, большая часть которых подвержена разным антропогенным воздействиям: рубкам, пожарам, рекреации, искусственному восстановлению.

В предыдущем нашем исследовании, посвященном изучению влияния рубок разной интенсивности на генетическое разнообразие изоферментных локусов у сосны обыкновенной, установлено достоверное сокращение числа редких аллелей у подростка сосны после рубок средней и высокой интенсивности в борах Красноярской лесостепи [Тихонова и др., 2021б]. Однако большая часть обобщенных генетических показателей оказалась мало чувствительна к антропогенной трансформации популяций. Остаются также сомнения относительно экологической “нейтральности” изоферментных локусов ввиду выявляемых экологических корреляций [Алтухов, 2004; Политов, 2007; Тихонова и др., 2016], хотя это имеет свои плюсы для целей мониторинга. Таким образом, имеющихся изоферментных маркеров для оценки влияния антропогенных факторов на генофонд сосны обыкновенной недостаточно. В связи с этим целью данного исследования был подбор других, более изменчивых, нейтральных генетических маркеров, в частности ядерных микросателлитных локусов (nSSR), пригодных для мониторинга сосновых лесов в Сибири, а также анализ корреляций между уровнем генетического разнообразия выборок и степенью нарушения популяций, отбор информативных показателей генетической изменчивости, чувствительных к антропогенным воздействиям.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в 13 популяциях сосны обыкновенной, произрастающих на юге Западной и Средней Сибири (рис. 1, табл. 1). В Западной Сибири образцы отбирали в Приобских ленточных борах (Алеусская, Кулундинская и Касмалинская ленты, последняя делится как минимум на две популяции), сильно нарушенных выборочными рубками [Shchur et al., 2017]. Из исследуемых попу-

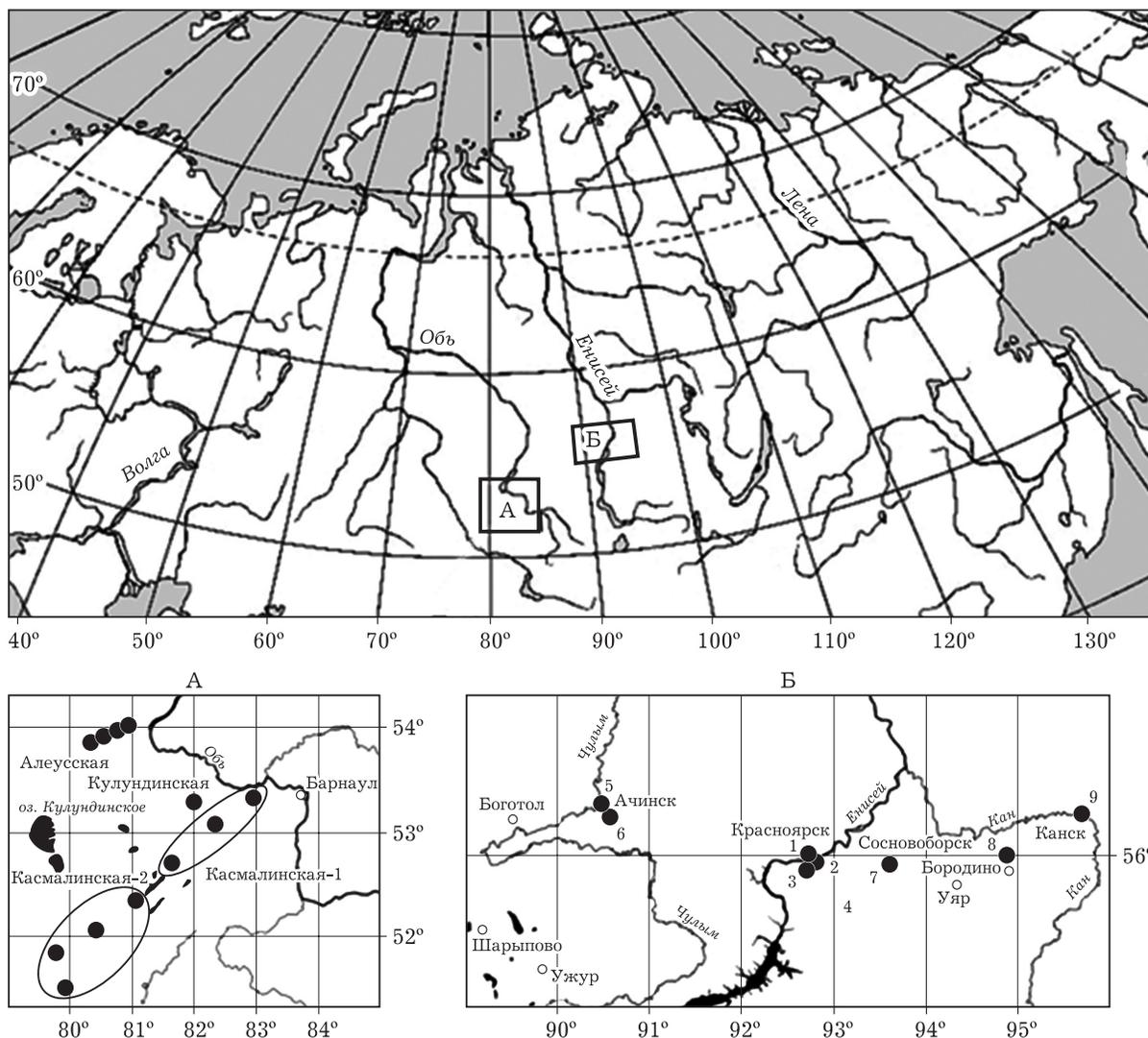


Рис. 1. Расположение изученных популяций сосны обыкновенной. А – Западная Сибирь, Б – Средняя Сибирь: 1 – Красноярск, 2 – Калтат, 3 – Нарым, 4 – Урман, 5 – Ачинск, 6 – Горный, 7 – Кускун, 8 – Гмирянка, 9 – Канск

ляций Средней Сибири наиболее нарушены рубками и пожарами боры Красноярской лесостепи и части окружающей ее южной тайги. Расстояние между популяциями в Средней Сибири варьируется от 24 до 650 км, из Приобских ленточных боров наиболее удалена Алеуская лента (200 км), между Кулундинской и Касмалинской лентами 60 км.

Всего проанализировано генотипов 772 деревьев в 26 выборках по 24–30 деревьев в каждой (см. табл. 1), в их числе взрослые деревья и подрост в большей части популяций. За исключением нескольких выборок из Национального парка “Столбы”, все исследуемые популяции несут следы различных форм ан-

тропогенного воздействия: рубок, пожаров, рекреации. Отделить их влияние довольно сложно, степень воздействия каждого из факторов тоже разная. Поэтому была использована обобщенная оценка степени нарушенности популяции в баллах: 1 – малонарушенная (до 25 % площади), 2 – средненарушенная (25–50 %), 3 – сильно нарушенная (50–70 %), 4 – крайняя степень деградации (выше 70 %, редколесья небольшой площади в окружении степей и полей). Степень нарушенности популяции определяли при описании опытных участков, фиксируя состояние древостоя и почвенного покрова, следы пожаров, а также по спутниковым снимкам Landsat за пе-

Т а б л и ц а 1  
Краткая характеристика популяций

Популяция	n	Состав древостоя	Возраст, лет	Нарушенность, баллы		
				популяции	участка	пожары
Красноярск	30	7С2Б1Л	80–120	2	1	0
Калтат	30	10С	40–60	3	2	2
Нарым	30	7П2Е1С	130–150	1	1	0
	29	5П2Е2С	5–14			
Урман	30	10С	30–60	2	2	0
	30	6П3Е1С	7–12			
Ачинск	30	9С1Б	150–200	2	1	0
Горный	30	5Б4Е1П	60–90	3	2	1
Кускун	29	10С	30–80	2	2	1
	30	10С	5–15			
Гмирянка	30	10С	50–120	2	1	2
	30	10С	8–15			
Канск	29	10С	70–110	1	2	0
	30	8С2Е	5–20			
Алеуская	24	10С	30–50	2	2	1
	30	10С	30–40	2	1	1
	30	10С	40–80	2	1	1
	30	8С2Б	30–50	2	3	1
Кулундинская	30	10С	40–70	3	2	2
Касмалинская-1 (северо-восточная)	30	10С	30–90	2	1	0
	30	10С	30–70	2	2	1
	30	10С	30–60	2	3	2
Касмалинская-2 (юго-западная)	30	10С	20–40	3	2	1
	30	10С	30–40	3	3	3
	30	10С	30–60	3	2	1
	30	10С	20–50	3	4	3

П р и м е ч а н и е. n – объем выборки; С – сосна; Е – ель; П – пихта; Б – береза.

риод 1985–2019 гг. Поскольку сами популяции фрагментированны и участки внутри популяций в разной степени нарушены, а история исследуемых нами популяций существенно влияет на показатели ее генетической изменчивости, что подтвердили и наши исследования [Тихонова и др., 2021a], использовали две оценки: нарушенность популяции в целом и нарушенность участка внутри популяции, на котором отбирали образцы хвои для исследования (см. табл. 1). Контролем служили малонарушенные участки популяции Кускун в Средней Сибири, популяции в северо-восточной части Касмалинской ленты в Приобье Западной Сибири с наиболее высокими показателями генетической изменчивости.

Выделение геномной ДНК проводили по стандартному протоколу для растительных тканей с применением СТАВ-метода из высушенной хвои [Devey et al., 1996]. Амплификацию отобранных ядерных микросателлитных локусов (psyl57 [Sebastiani et al., 2012]; PtTx2146 [Auckland et al., 2002]; lw\_isotig04195, lw\_isotig04306, lw\_isotig10603, lw\_isotig21953 [Fang et al., 2014]) проводили при следующем режиме: предварительная денатурация ДНК при 95 °С – 5 мин; далее 30 циклов, включающих денатурацию – 30 с при 94 °С; отжиг праймеров – 40 с при 60 °С и элонгация – 40 с при 72 °С. Завершающий цикл элонгации проходил при 72 °С в течение 5 мин. Для проведения ПЦР использова-

ли универсальный беспраймерный набор УБП 1–4 ООО “НПФ “Генлаб” (Россия) согласно рекомендациям производителя.

Электрофоретическое разделение амплифицированных фрагментов ДНК проводили в 6 % полиакриламидном геле с использованием Трис-ЭДТА-боратной буферной системы, рН 8,3 при напряжении 15 В / 1 см геля в течение 2–3 ч с последующей окраской нитратом серебра. Длину фрагментов определяли путем сопоставления со стандартным маркером ORange Ruler 20 bp DAN Ladder (Thermo Scientific, Литва). Варианты размера фрагмента рассматривали в качестве аллелей данного локуса.

Для каждой популяции в программе GenAlex 6 [Peakall, Smouse, 2006] вычисляли следующие стандартные показатели генетической изменчивости: процент полиморфных локусов ( $P$ ), среднее ( $N_a$ ) и эффективное число аллелей на локус ( $N_e$ ), наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $N_e$ ) гетерозиготность, коэффициент инбридинга ( $F$ ), число мигрантов на поколение ( $N_m$ ). Соответствие распределения генотипов уравнению Харди – Вайнберга определяли по критерию  $\chi^2$ . Популяционную структуру – степень генетической подразделенности между популяциями и внутри популяций, определяли с помощью  $F$ -статистик Райта;  $F_{IS}$  (уровень инбридинга особи относительно популяции),  $F_{IT}$  (уровень инбридинга особи относительно вида),  $F_{ST}$  (уровень инбридинга популяции относительно вида – подразделенность популяций) [Wright, 1978; Хедрик, 2003], их значимость оценивали так-

же с помощью  $\chi^2$ . Для оценки различий между выборками использовали  $F_{ST}$  и метод главных компонент (PCoA). Использовали следующую градацию частот встречаемости аллелей: общие аллели – встречаются во всех популяциях; нередкие аллели – встречаются в популяциях со средней частотой  $> 5 \%$ ; редкие аллели – встречаются со средней для всех популяций частотой  $\leq 5 \%$ , очень редкие аллели – встречаются в 1–2 популяциях. Для оценки связи между показателями генетической изменчивости и степени нарушенности популяций использовали непараметрический корреляционный анализ и коэффициент корреляции Спирмена  $R$  [Боровиков, 2003]. Критерий Фишера, рассчитываемый с помощью метода марковских цепей, использовали для определения достоверности различий по частоте встречаемости аллелей для всего набора локусов и полокусно в программе Genepop [Rousset, 2008].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ изменчивости шести стабильно амплифицируемых полиморфных локусов, пригодных для изучения генетической изменчивости сосны обыкновенной в сибирской части ареала (табл. 2), показал, что наибольшее число аллельных вариантов в исследуемых нами популяциях имеют локусы lw\_isotig21953 (20 аллелей) и PtTx2146 (16 аллелей). Меньшее число аллелей обнаружено в локусах lw\_isotig04195 (5 аллелей), psy157 (6 аллелей), локусах lw\_isotig10603 (7 аллелей) и

Т а б л и ц а 2

### Характеристика использованных ядерных микросателлитных локусов

Локус, номер в GenBank	Мотив	Размер аллелей, п. о.	Число аллелей*	Источник литературы
psy157 HQ113944	(ACC) <sub>7</sub>	190–205	6 (6, 7)	Sebastiani et al., 2012; Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023
PtTx2146 AF143963	(GAG) <sub>5</sub> (CAG) <sub>8</sub> CGG(CAG) <sub>7</sub> CGG(CAG) <sub>4</sub>	182–263	16 (9, 10, 19)	Elsik et al., 2000; Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023
lw_isotig04195 KF501204	(GAG) <sub>5</sub>	189–204	5 (4, 6)	Fang et al., 2014; Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023
lw_isotig04306 KF501205	(TCC) <sub>7</sub>	175–227	8 (3, 8, 10)	Fang et al., 2014; Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023
lw_isotig10603 KF101191	(CAG) <sub>7</sub>	187–205	7 (2)	Fang et al., 2014
lw_isotig21953 KF501193	(ATGGG) <sub>7</sub>	188–293	20 (7)	Fang et al., 2014

П р и м е ч а н и е. п. о. – пар оснований.

\* В скобках – данные из литературы.

Основные показатели генетической изменчивости в исследуемых сибирских популяциях сосны обыкновенной

Популяция	$n$	$N_a$	$N_e$	$H_o$	$H_e$	$N$	$N_R$	$N_r$	$F$
Средняя Сибирь									
Кускун	59	7,333	3,060	0,583	0,574	<b>44</b>	<b>20</b>	2	-0,025
Гмирянка	60	6,500	3,210	0,586	0,583	39	15	1	-0,014
Канск	59	6,833	3,270	0,556	0,585	41	17	1	0,055
Красноярск	30	5,333	2,937	0,572	0,558	32	9	1	0,010
Ачинск	30	6,500	3,455	0,644	0,622	39	13	3	-0,038
Горный	30	5,667	3,049	0,628	0,569	34	11	0	-0,106
Нарым	59	7,000	3,197	0,624	0,598	42	18	2	-0,049
Калтат	30	6,500	3,369	0,556	0,571	39	15	2	0,027
Урман	60	6,333	3,146	0,575	0,595	38	14	1	0,041
Западная Сибирь									
Касмалинск-1	60	7,167	2,982	0,592	0,581	<b>43</b>	<b>20</b>	2	-0,012
Касмалинск-2	60	6,500	2,825	0,575	0,592	39	15	3	0,027
Алеуская	60	7,000	3,316	0,633	0,626	42	18	1	-0,003
Кулундинск	30	5,500	3,036	0,647	0,610	33	9	0	-0,054
Среднее	48	6,474 ± 0,371	3,142 ± 0,198	0,598 ± 0,023	0,590 ± 0,021	38,8 ± 1,06	14,9 ± 0,79	1,46 ± 0,81	-0,01 ± 0,012

П р и м е ч а н и е.  $n$  – число особей;  $N_a$  – среднее число аллелей на locus;  $N_e$  – эффективное число аллелей;  $H_o$ ,  $H_e$  – наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность;  $N$  – общее число аллелей;  $N_R$  – число редких (частота в популяциях  $\leq 5\%$ );  $N_r$  – число очень редких аллелей;  $F$  – индекс фиксации Райта, жирным шрифтом выделен контроль.

lw\_isotig04306 (8 аллелей). Всего в перечисленных выше локусах во всех выборках выявлено 62 аллеля: 21 аллель общих (34%), 38 – редких (61%), 8 (13%) из которых встречались только в одной из популяций, еще 7 аллелей встречались только в двух популяциях (вместе 15 очень редких аллелей, или 24%).

Из 15 очень редких аллелей по 7 аллелей встречаются только в ленточных борах Западной Сибири либо только в среднесибирских популяциях. Наибольшим разнообразием по общему числу аллелей и числу редких аллелей микросателлитных локусов среди популяций ленточных боров Западной Сибири отличается северо-восточная часть Касмалинской ленты, примыкающая к Приобским борам, в Средней Сибири – популяция Кускун (см. табл. 2).

Установлено, что анализируемые локусы полиморфны во всех изученных нами популяциях, среднее число аллелей на locus ( $N_a$ ) варьируется в популяциях от 5,33 до 7,33, эффективное число аллелей ( $N_e$ ) – от 2,83 до 3,46, значения наблюдаемой ( $H_o$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ) – от 0,56 до 0,65 и 0,56 до 0,63 соответственно (табл. 3). Средние значения этих показателей составляют:  $N_a = 6,47$ ,  $N_e = 3,14$ ,  $H_o = 0,60$ ,  $H_e = 0,59$ .

Индекс фиксации Райта свидетельствует об отсутствии значимых отклонений в соотношении числа гомо- и гетерозиготных многоаллельных генотипов во всех популяциях. В среднем по шести локусам инбридинг особи относительно популяции составляет 1,2%, особи относительно вида – 1,4%, популяции относительно вида – 2,6%, среднее число мигрантов на поколение ( $N_m$ ) – 12,9 (от 5,0 в локусе psyl57 до 24,2 в локусе lw\_isotig04195).

Ввиду зависимости выявляемого генетического разнообразия в популяции от объема выборки, а в наших популяциях он варьировал от 30 до 144 особей, все большие выборки были случайным образом ограничены 60 деревьями. В подтверждение существенности этого фактора приведем коэффициенты корреляции числа аллелей в популяциях с объемами выборок (табл. 4), они в каждой популяции были достоверными и высокими. Однако даже стандартизированные данные при таком диапазоне выборок (30–60) показывают средние достоверные коэффициенты корреляции числа аллелей с ними. Незначимыми различия по объему выборок оказались только для числа очень редких (уникальных) аллелей. В наи-

**Коэффициенты корреляции ( $r$ ) разнообразия аллелей в шести ядерных микросателлитных локусах с объемом выборки внутри популяций**

Показатель	Коэффициент корреляции для объема популяционной выборки	
	30–144 шт.	30–60 шт.
Общее число аллелей ( $N$ )	0,84*	0,74*
Число редких аллелей ( $N_R$ )	0,83*	0,78*
Число очень редких аллелей ( $N_r$ )	0,49	0,22

\* Уровень достоверности  $p < 0,01$ .

более представительных популяциях из Западной Сибири объемом 90–144 дерева различия по числу аллелей оказались несущественными: общее число аллелей – 46–47, число редких аллелей – 22–23 (48 %). В ограниченных объемах выборок общее число аллелей составило 59, из них редких 35 (в том числе очень редких 13). При этом средние статистические показатели по популяциям остались прежними.

По результатам дисперсионного анализа AMOVA, 96 % генетической изменчивости сосредоточено внутри популяций, 0,6 % – между выборками внутри популяций, 1 % – между популяциями внутри регионов и 3 % – между регионами Средней и Западной Сибири. Уровень дифференциации между географически удаленными популяциями сопоставим с тем, что был получен нами ранее при сравнении выборок сосны обыкновенной из Средней и Восточной Сибири по изоферментным локусам [Экарт и др., 2014].  $F_{ST}$  между большинством популяций двух регионов варьи-

руются в пределах 0,015–0,038, внутри регионов различия между популяциями составляют 0,003–0,016. Анализ PCoA также показал четкое разделение двух географически удаленных групп популяций на плоскости первых двух главных координат, в сумме объясняющих 80 % генетической изменчивости (рис. 2). Доля дисперсии первой главной координаты, в пределах которой они разделились, составляет 64 %.

Необходимо также отметить довольно высокие генетические различия для рядом расположенных изолированных ленточных боров Приобья, особенно двух частей самой протяженной Касмалинской ленты ( $F_{ST} = 0,007–0,013$ ). В популяциях Средней Сибири наиболее удалены выборки из пригородов Красноярска (Калтат) и Ачинска (Горный). Кроме того, внутри некоторых популяций выборки были также сильно дифференцированы (рис. 3), прежде всего, это популяции изолированных лесостепных боров и наибо-



Рис. 2. Ординация популяций сосны обыкновенной на плоскости первых двух главных координат

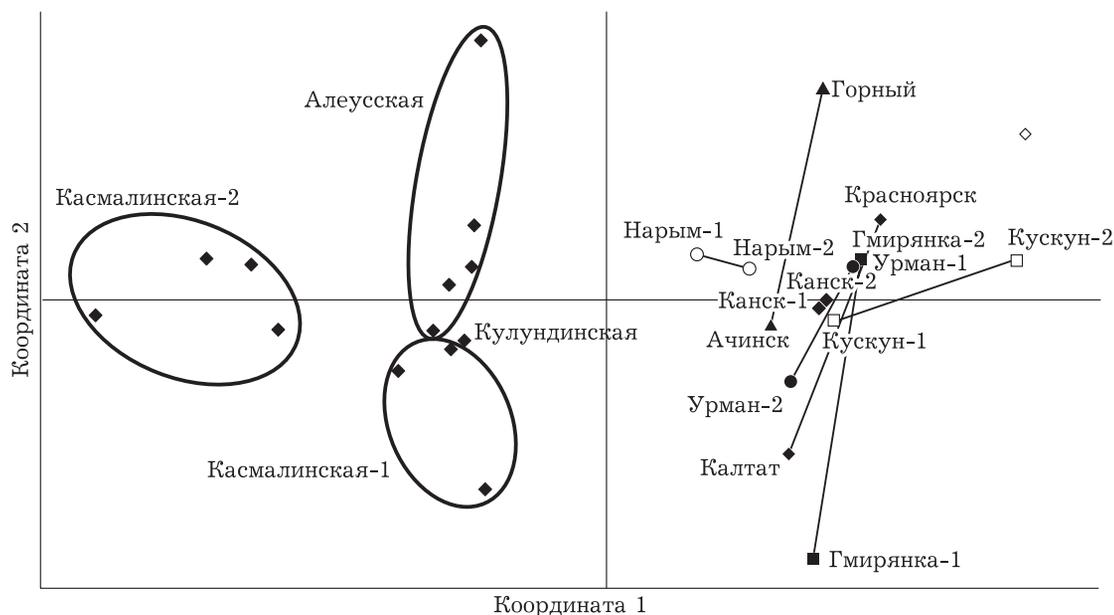


Рис. 3. Распределение субпопуляционных выборок деревьев на плоскости двух первых главных координат по парным значениям  $F_{ST}$ .

лее нарушенные антропогенным воздействием: Алеуская и юго-западная часть Касмалинской ленты Приобских ленточных боров (Касмалинская-2), изолированный бор в окр. с. Гмирянка, две рядом расположенные изолированные небольшие по площади популяции Ачинск и Горный – первая является городским естественным парком, вторая – остатком древесной растительности вдоль ручья в окружении полей и степей.

Для оценки связи генетических показателей со степенью нарушенности популяций использовали непараметрический корреляционный анализ, отдельно для общепопуляционных выборок и всех первичных выборок. По результатам анализа установлена достоверная корреляция среднего числа аллелей на локус ( $N_a$ ), общего числа аллелей ( $N$ ), числа редких аллелей ( $N_R$ ) в популяционных выборках, прежде всего с площадью популяций (ранговые коэффициенты Спирмена  $R$  составили соответственно 0,85, 0,71, 0,61;  $p < 0,05$ –0,001). Со степенью нарушенности популяции достоверно коррелировали среднее число аллелей на локус ( $N_a$ ) и общее число аллелей ( $N$ ) ( $R = -0,56$  и  $-0,58$ ;  $p < 0,05$ ). В анализе внутрипопуляционных выборок достоверных корреляций показателей генетического разнообразия со степенью нарушенности популяций или участков внутри них не выявлено ( $R = -0,25$ –

0,33), что, по-видимому, является следствием больших межпопуляционных различий, которые перекрывают и “заглушают” отклик 26 выборок внутри популяций при их совместном корреляционном анализе.

В обобщенной выборке всех деревьев достоверное превышение числа гомозиготных генотипов отмечено в локусах *lw\_isotig04195* ( $\chi^2 = 29,6$ ;  $d. f. = 21$ ;  $p < 0,001$ ) и *lw\_isotig21953* ( $\chi^2 = 227,4$ ;  $d. f. = 190$ ;  $p < 0,033$ ). Также только по одному локусу получены отклонения от равновесного распределения генотипов в пяти обобщенных популяционных выборках из 13, независимо от степени их нарушенности ( $\chi^2 = 14,0$ –42,9;  $p < 0,003$ –0,00001). Для внутрипопуляционных выборок достоверные отклонения от равновесия Харди – Вайнберга получены в семи выборках по одному локусу, в двух – по двум и трем локусам соответственно. Из них отмечено три случая отклонения по локусам *lw\_isotig04195* и *lw\_isotig10603*, два – по локусам *lw\_isotig04306*, *psyl57*, также вне связи с оценкой нарушенности участка или популяции.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 2, в исследуемых нами сибирских популяциях сосны обыкновенной разнообразие аллелей шести ядерных мик-

росателлитных локусов достаточно высокое и сопоставимо с наиболее высокими значениями изменчивости аналогичных локусов, выявленной в популяциях европейской части ареала вида и Средней Сибири [Sebastiani et al., 2012; Fang et al., 2014; Шуваев и др., 2022; Sheller et al., 2023]. Сравнивая ядерные генетические маркеры с цитоплазматическими, можно отметить, что исследованные в сибирской части ареала митохондриальные локусы малоизменчивы [Семериков и др., 2015; Semerikov et al., 2018], и поэтому пока не могут быть использованы для мониторинга популяций. Хотя в перспективе они могут быть полезны для нашей цели при нахождении более изменчивых локусов, благодаря наследованию по материнской линии (через семена) и установлению по ним определенной географической структуры популяций. Хлоропластные маркеры, напротив, высокоизменчивы, но при этом не обнаруживают связи с географической структурой популяций вида, так как различия быстро нивелируются благодаря наследованию через пыльцу и ее переносу ветром на большие расстояния [Семериков и др., 2014]. В отличие от них, nSSR-маркеры на исследованных популяциях двух регионов показывают одновременно высокую изменчивость и определенную географическую структуру. Поэтому из трех сравниваемых типов генетических маркеров ядерные микросателлитные локусы в настоящее время наиболее удобны для целей мониторинга.

Для сравнения, по 16 полиморфным локусам изоферментов те же показатели генетической изменчивости 13 популяций в этой части ареала вида варьировали в пределах:  $N_a = 2,45-2,88$ ,  $N_e = 1,36-1,54$ ,  $H_o = 0,244-0,294$ ;  $H_e = 0,239-0,303$ ,  $F = -0,075...0,064$  [Тихонова и др., 2021a]. В более широких географических границах, включая Восточную Сибирь и Монголию, в пересчете на полиморфные локусы  $N_a = 2,25-2,94$ ,  $N_e = 1,39-1,60$ ,  $H_o = 0,225-0,350$ ,  $H_e = 0,228-0,324$ ,  $F = -0,079...0,051$  [Экарт и др., 2014]. Таким образом, в целом изменчивость шести микросателлитных локусов существенно выше таковой для 16 полиморфных локусов изоферментов, используемых в тех же выборках.

Для оценки чувствительности nSSR-локусов к антропогенным нарушениям популяций проведен сравнительный анализ выборок вну-

три каждого региона по точному критерию Фишера. Он выявил достоверное сокращение числа редких аллелей (на 24–55 %) и общего числа аллелей (на 11–27 %) во всех шести средне- и сильнонарушенных популяциях Средней Сибири по сравнению с региональным контролем (Кускун) ( $p < 0,03-0,00007$ ). Две малонарушенные популяции по этим показателям достоверно не отличались от контроля ( $p < 0,115-0,500$ ). В Западной Сибири отклонения от контроля были достоверны в выборках из Кулундинской и Касмалинской-2 популяций ( $p < 0,023-0,00054$ ). При этом нарушенность популяций в большей степени была обусловлена воздействием пожаров (коэффициент ранговой корреляции  $R = 0,77$ ,  $p < 0,01$ ). Полученные нами результаты в целом подтверждают отмеченное рядом исследователей влияние рубок и пожаров, а также других антропогенных факторов на генетическое разнообразие и структуру популяций хвойных древесных видов растений [Ledig, 1992; Vuchert et al., 1997; Marquard et al., 2007; Падутов и др., 2008; Ratnam et al., 2014].

Необходимо также отметить, что в отличие от изоферментных маркеров, по которым нами получены существенные различия на небольших участках вырубках внутри популяций [Тихонова и др., 2021b], высокоизменчивые ядерные микросателлитные маркеры отличаются меньшей разрешающей способностью при сравнении участков небольшой площади, поэтому различия между участками внутри популяций по всем показателям разнообразия аллелей оказались недостоверны. Возможно, для используемого типа маркеров требуется больший объем внутривыборочных выборок, чем 24–30 шт., об этом свидетельствуют приведенные выше коэффициенты корреляции между числом аллелей и объемом выборок.

Еще одной причиной отсутствия связи между величинами разнообразия аллелей nSSR-локусов и антропогенными факторами внутри популяций может быть использование нами в данной работе показателей смешанной антропогенной нарушенности участков популяций, в отличие от предыдущего исследования вырубков. По-видимому, для целей мониторинга нарушенности популяции лучше использовать четкие количественные признаки по разным типам нарушений, так как сме-

шанные эффекты, иногда разнонаправленные в их влиянии на генетическое разнообразие популяций [Тихонова и др., 2021a], не дают такой определенной зависимости, какая была получена нами при исследовании влияния рубок разной интенсивности на генетическую изменчивость у подростка сосны обыкновенной в Средней Сибири по изоферментным локусам. В частности, установлено существенное обеднение аллельного разнообразия после рубок средней и высокой интенсивности, но увеличение его после совместного использования рубок низкой интенсивности и низовых пожаров, предвещающих рубку за 5–10 лет. Однако можно предположить, что если бы участок выгорел после рубки, то эффект от рубки на генетическое разнообразие у молодого поколения популяции был бы более заметным и негативным. Косвенно это подтверждают случаи плохого возобновления Приобских сосновых боров в Западной Сибири при таком сочетании условий лесопользования и на крупных вырубках после сильного пожара [Фуряев и др., 2005; Иштугин и др., 2006], а также наблюдаемые нами вырубки, пройденные пожаром с последующей заменой возобновления сосны на березу порослевого происхождения.

Отмеченная нами большая дифференциация изолированных, в том числе небольших популяций, большие генетические дистанции между участками внутри наиболее нарушенных популяций согласуются с результатами других исследователей, наблюдавших более высокие межпопуляционные различия на южной границе ареала между изолированными популяциями вида [Санников и др., 2002], большую дифференциацию популяций сосны Арманда – вида с сильно фрагментированным ареалом, краевых популяций сосны корейской [Политов, 2007], двух изолированных популяций ели сибирской по южной границе ареала [Кравченко, 2009], большую межпопуляционную подразделенность наряду с низким уровнем полиморфизма пихты сибирской в целом [Семерикова, 2008; Тихонова и др., 2021a]. Эти факты, в большем числе и масштабах, подтверждают отмеченное нами ранее (по изоферментным локусам) увеличение генетической дистанции между выборками внутри популяции в пригороде Ачинска после рубки высокой интенсивности. Следстви-

ем тех же процессов, по-видимому, является увеличение генетических расстояний между малоудаленными лесостепными борами, расположенными в густонаселенных районах при низком уровне их лесистости.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что изменчивость шести отобранных nSSR-локусов в сибирских популяциях достаточно высокая и сопоставима с таковой в западной части ареала вида. По ним также прослеживается четкая географическая структура популяций. Между двумя исследуемыми регионами Сибири выявлены существенные генетические различия, подтверждаемые более высокими значениями  $F_{ST}$ , различиями в географическом распределении очень редких аллелей, а также результатами дисперсионного анализа AMOVA. Более определенные выводы о межрегиональных различиях внутри ареала вида и их исторических аспектах можно будет сделать после включения в анализ популяций из средней и северной подзон тайги, гор Южной Сибири.

Отмечено, что изменчивость nSSR-маркеров значительно выше по сравнению с используемыми изоферментными локусами в тех же популяционных выборках сосны обыкновенной.

В результате анализа сопряженности показателей генетической изменчивости в выборках со степенью нарушенности популяций сосны обыкновенной установлены достоверные корреляции по среднему числу аллелей на локус  $N_a$  и общему числу аллелей в шести локусах. Установлено достоверное сокращение общего числа аллелей  $N$  и числа редких аллелей  $N_R$  во всех средне- и сильнонарушенных популяциях Средней Сибири и двух популяций Западной Сибири по сравнению с региональным контролем. Малонарушенные популяции по этим показателям достоверно не отличались от контроля. Проведенное исследование подтвердило прямую связь парных значений  $F_{ST}$  между участками внутри популяций и между популяциями со степенью их нарушенности и изолированностью, отмеченную нами ранее как следствие интенсивной вырубки для внутривидовой структуры сосны обыкновенной.

Методические выводы по работе: 1. По совокупности характеристик ядерные nSSR-локусы по сравнению с цитоплазматическими локусами в настоящее время более пригодны для генетического мониторинга нарушенности популяций сосны обыкновенной наряду с изоферментными локусами.

2. В оценке нарушенности популяций желательнее раздельно учитывать разные антропогенные факторы и по возможности использовать для этого количественные характеристики.

3. Существенная коррелированность показателей аллельного разнообразия с объемом выборки подтверждает необходимость либо увеличить объем популяционной выборки до 90–120 деревьев при использовании данных маркеров, либо при меньших объемах выборки (желательно 50–60) ориентироваться прежде всего на уникальные и очень редкие аллели. Выборка объемом 30 особей недостаточна для оценки влияния внешних факторов на генетическую изменчивость популяций, все такие популяции “выпадают” из отмеченных выше зависимостей.

4. При использовании nSSR-локусов наиболее информативны показатели разнообразия  $N$ ,  $N_a$  и  $N_R$ . Обобщенные генетические показатели по nSSR-локусам, как и по изоферментам, мало чувствительны к антропогенной трансформации популяций.

5. Отсутствие достоверных корреляций между уровнем генетической изменчивости и нарушенностью участков внутри популяций, по-видимому, объясняется тем, что при аналогичных объемах выборки nSSR-локусы отличаются меньшей разрешающей способностью на небольшой площади по сравнению с изоферментными локусами, так как, на наш взгляд, объем выборки для анализа должен быть соразмерен величине внутрипопуляционной изменчивости разных генетических маркеров. Если после соблюдения условий пунктов 2 и 3 данные маркеры окажутся малоинформативными на участках площадью 1–30 га, то можно будет сделать определенный вывод о том, что в эколого-генетическом мониторинге лесных древесных растений при использовании высокоизменчивых ядерных микросателлитных локусов элементарной единицей исследования является популяция, а не участок.

6. Анализ аллельного разнообразия выборок следует проводить поэтапно: внутри популяции (сравнение с местным контролем), внутри каждого региона отдельно (сравнение с региональным контролем), таким образом обязательно учитывая географическую внутривидовую структуру вида. Кроме того, высокие коэффициенты корреляции показателей генетического разнообразия с площадью популяций естественны, однако их практическое значение заключается в том, что данный фактор также необходимо учитывать в генетическом мониторинге лесов, для небольших популяций критерий оценки должен быть жестче, с повышающим поправочным коэффициентом.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФГБНУ ИЛ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН № 0287-2021-0009.

В работе использовано оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алтухов Ю. П. Динамика генофондов при антропогенных воздействиях // Вестник ВОГиС. 2004. Т. 8, № 2. С. 40–59.
- Боровиков В. П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2003. 688 с.
- Гончаренко Г. Г., Силин А. Е., Падутов В. Е. Исследование генетической структуры и дифференциации у *Pinus sylvestris* L. в центральных и краевых популяциях Восточной Европы и Сибири // Генетика. 1993. Т. 29, № 12. С. 2019–2038.
- Государственный доклад “О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2015 году. Лес 2015” [Электронный ресурс]: Официальный сайт Министерства природы России. [https://www.mnr.gov.ru/upload/iblock/28d/les\\_2015.docx](https://www.mnr.gov.ru/upload/iblock/28d/les_2015.docx)
- Зацепина К. Г., Тараканов В. В., Кальченко Л. И., Экарт А. К., Ларионова А. Я. Дифференциация популяций сосны обыкновенной в ленточных борах Алтайского края, выявленная с применением маркеров различной природы // Сиб. лесн. журн. 2016. № 5. С. 21–32.
- Ильинов А. А., Раевский Б. В. Сравнительная оценка генетического разнообразия естественных популяций и клоновых плантаций сосны обыкновенной и ели финской в Карелии // Экол. генетика. 2015. Т. 13, № 4. С. 55–67 [Ilinov A. A., Raevsky B. V. Comparative evaluation of the genetic diversity of natural populations and clonal seed orchards of *Pinus sylvestris* L. and *Picea × Fennica* (Regel) Kom. in Karelia // Rus. Journ. Genet.: Appl. Res. 2017. Vol. 7, N 6. P. 607–616].
- Ишутин Я. Н., Бушков Н. Т., Гопиенко К. А., Ильичев Ю. Н., Тараканов В. В. Естественное лесовозобновление на вырубках по гарям Приобских боров Алтай: Проблемы и перспективы // Лесн. хоз-во. 2006. № 1. С. 12–15.

- Кравченко А. Н. Внутривидовое разнообразие и дифференциация популяций ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в Средней Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск: ИЛ СО РАН, 2009. 16 с.
- Падутов В. Е., Хотылева Л. В., Баранов О. Ю., Ивановская С. И. Генетические эффекты трансформации лесных экосистем // Экол. генетика. 2008. Т. 6, № 1. С. 3–11.
- Политов Д. В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. Pinaceae) Северной Евразии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2007. 47 с.
- Потенко В. В. Полиморфизм изоферментов и филогенетические взаимоотношения хвойных видов Дальнего Востока России: дис. ... д-ра биол. наук. Хабаровск, 2004. 188 с.
- Санников С. Н., Петрова И. В. Филогенгеография и генотаксономия популяций вида *Pinus sylvestris* L. // Экология. 2012. № 4. С. 252–260 [Sannikov S. N., Petrova I. V. Phylogenogeography and genotaxonomy of *Pinus sylvestris* L. populations // Rus. J. Ecol. 2012. Vol. 43, N 4. P. 273–280].
- Санников С. Н., Петрова И. В., Семериков В. Л. Генофеногеографический анализ популяций *Pinus sylvestris* L. на трансекте от северной до южной границы ареала // Экология. 2002. № 2. С. 97–102 [Sannikov S. N., Petrova I. V., Semerikov V. L. Gen- and phenogeographic analysis of *Pinus sylvestris* L. populations along the transect extending from the northern to southern boundary of the species range // Rus. J. Ecol. 2002. Vol. 33, N 2. P. 86–91].
- Семериков В. Л., Путинцева Ю. А., Орешкова Н. В., Семерикова С. А., Крутовский К. В. Разработка новых маркеров митохондриальной ДНК сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) для популяционно-генетических и филогеографических исследований // Генетика. 2015. Т. 51, № 12. С. 1386–1402 [Semerikov V. L., Putintseva Yu. A., Oreshkova N. V., Semerikova S. A., Krutovsky K. V. Development of new mitochondrial DNA markers in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) for population and phylogeographic studies // Rus. J. Genet. 2015. Vol. 51, N 12. P. 1199–1203].
- Семериков В. Л., Семерикова С. А., Дымшакова О. С., Зацепина К. Г., Тараканов В. В., Тихонова И. В., Экарт А. К., Видякин А. И., Жамьянсурен С., Роговцев Р. В., Кальченко Л. И. Полиморфизм микросателлитных локусов хлоропластной ДНК сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в Азии и Восточной Европе // Генетика. 2014. Т. 50, № 6. С. 660–669 [Semerikov V. L., Semerikova S. A., Dymshakova O. S., Zatsepina K. G., Tarakanov V. V., Tikhonova I. V., Ekart A. K., Vidyakin A. I., Jamiyansuren S., Rogovtsev R. V., Kalchenko L. I. Microsatellite loci polymorphism of chloroplast DNA of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Asia and eastern Europe // Rus. J. Genet. 2014. Vol. 50, N 6. P. 577–585].
- Семерикова С. А. Популяционно-таксономическая структура видов пихт (*Abies* Mill., Pinaceae) северо-востока Евразии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН, 2008. 24 с.
- Тихонова И. В., Экарт А. К., Кравченко А. Н., Зацепина К. Г. Неравновесие распределения генотипов по парам изоферментных локусов в популяциях сосны обыкновенной в лесостепных районах Сибири // Генетика. 2016. Т. 52, № 9. С. 1042–1054 [Tikhonova I. V., Ekart A. K., Kravchenko A. N., Zatsepina K. G. Disequilibrium Distribution of Genotypes in the Pairs of Isozyme Loci in the Pine Populations of the Forest-Steppe Regions of Siberia // Rus. J. Genet. 2016. Vol. 52, N 9. P. 926–938].
- Тихонова И. В., Экарт А. К., Кравченко А. Н., Тихонова Н. А. Генетическая изменчивость в популяциях *Pinus sylvestris*, *Picea obovata*, *Abies sibirica* и на вырубках в южной тайге Средней Сибири // Генетика. 2021а. Т. 57, № 3. С. 296–310 [Tikhonova I. V., Ekart A. K., Kravchenko A. N., Tikhonova N. A. Genetic Variability in *Pinus sylvestris*, *Picea obovata*, and *Abies sibirica* Populations and in Felling in the Southern Taiga of Central Siberia // Rus. J. Genet. 2021. Vol. 57, N 3. P. 297–310].
- Тихонова И. В., Экарт А. К., Кравченко А. Н., Тихонова Н. А., Семенякин Д. А. Влияние рубок разной интенсивности на генетическое разнообразие подроста сосны в северной лесостепи Средней Сибири // Лесоведение. 2021б. № 4. С. 379–392.
- Фуряев В. В., Заблоцкий В. И., Черных В. А. Пожароустойчивость сосновых лесов. Новосибирск: Наука, 2005. 160 с.
- Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Изд-во “Техносфера”, 2003. 592 с. [Hedrick Ph. W. Genetics of Populations. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, Inc. 1999. 553 p].
- Шуваев Д. Н., Ибе А. А., Щерба Ю. Е., Сухих Т. В., Шилкина Е. А., Шеллер М. А., Усова Е. А., Лисотова Е. В., Репях М. В., Ступакова О. М. Молекулярно-генетическая характеристика популяций сосны обыкновенной в Красноярском крае по панели 15 ядерных микросателлитных локусов // Лесоведение. 2022. № 5. С. 530–539.
- Экарт А. К., Ларионова А. Я., Зацепина К. Г., Кравченко А. Н., Жамьянсурэн С., Тихонова И. В., Тараканов В. В. Генетическое разнообразие и дифференциация популяций сосны обыкновенной в Южной Сибири и Монголии // Сиб. экол. журн. 2014. Т. 21, № 1. С. 69–78. [Ekart A. K., Larionova A. Ya., Zatsepina K. G., Kravchenko A. N., Zhamyansuren S., Tikhonova I. V., Tarakanov V. V. Genetic diversity and differentiation of populations of scots pine in Southern Siberia and Mongolia // Contemporary Problems of Ecology. 2014. Vol. 7, N 1. P. 52–59].
- Auckland L., Bui T., Zhou Y., Shepherd M., C. Williams. Conifer Microsatellite Handbook. Texas A&M University, College Station, Texas, USA, 2002. 57 p.
- Buchert G. P., Rajora O. P., Hood J. V., Dancik B. P. Effects of harvesting on genetic diversity in old-growth eastern white pine (*Pinus strobes* L.) in Ontario, Canada // Conserv. Biol. 1997. N 11. P. 747–758.
- Devey M. E., Bell J. C., Smith D. N., Neale D. B., Morgan G. F. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // Theor. Appl. Genet. 1996. Vol. 92, N 6. P. 673–679.
- Elsik C. G., Minihan V. T., Hall S. E., Scarpa A. M., Williams C. G. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. // Genome. 2000. Vol. 43, N 3. P. 550–555.
- Fang P., Niu S., Yuan H., Li Z., Zhang Y., Yuan L., Li W. Development and characterization of 25 EST-SSR markers in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Pinaceae) // Appl. Plant Sci. 2014. Vol. 2, N 1. <http://dx.doi.org/10.3732/apps.1300057>
- Larionova A. Ya. Genetic variability in Scotch pine in the south-eastern part of its range // Rus. J. Genet. 2002. Vol. 38, N 12. P. 1391–1396.

- Ledig F. Human impacts on genetic diversity in forest ecosystems // *Oikos*. 1992. Vol. 63. P. 87–108.
- Marquard P. E., Echt C. S., Epperson B. K., Pubanz D. M. Genetic structure, diversity, and inbreeding of eastern white pine under different management conditions // *Can. J. For. Res.* 2007. Vol. 37. P. 2652–2662.
- Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol. Notes*. 2006. N 6. P. 288–295.
- Ratnam W., Rajora Om P., Finkeldey R., Aravanopoulos F., Bouvet J.-M., Vaillancourt R. E., Kanashiro M., Fady B., Tomita M., Vinson Ch. Genetic effects of forest management practices: Global synthesis and perspectives // *Forest Ecol. and Management*. 2014. 14 p. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2014.06.008>
- Rousset F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux // *Mol. Ecol. Res.* 2008. Vol. 8, N 1. P. 103–106.
- Sebastiani F., Pinzauti F., Kujala S. T., González-Martínez S. C., Vendramin G. G. Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. // *Conservat. Genet. Res.* 2012. N 4. P. 231–234.
- Semerikov V. L., Semerikova S. A., Putintseva Y. A., Orechkova N. V., Krutovsky K. V., Tarakanov V. V., Tikhonova I. V., Vidyakin A. I. Colonization history of Scots pine in Eastern Europe and North Asia based on mitochondrial DNA variation // *Tree Genet. Genom.* 2018. Vol. 14, N 8. 7 p.
- Shchur A., Bragina E., Sieber A., Pidgeon A. M., Radeloff V. C. Monitoring selective logging with Landsat satellite imagery reveals that protected forests in Western Siberia experience greater harvest than non-protected forests // *Environ. Conservat.* 2017. Vol. 44 (2). P. 191–199.
- Sheller M., Tóth E. G., Ciocirlan E., Mikhaylov P., Kulakov S., Kulakova N., Melnichenko N., Ibe A., Sukhikh T., Curtu A. L. Genetic Diversity and Population Structure of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) in Middle Siberia // *Forests*. 2023. Vol. 14, P. 119. <https://doi.org/10.3390/f14010119>
- Wright S. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. Chicago: Univ. Chicago, 1978. 590 p.

## Variability of genetic nSSR-markers in anthropogeneously disturbed scots pine populations in Middle and Western Siberia: methodological aspects of genetic monitoring

I. V. TIKHONOVA<sup>1</sup>, A. K. EKART<sup>2</sup>, A. N. KRAVCHENKO<sup>2</sup>, K. G. KHOMUTOVA<sup>1</sup>, N. A. TIKHONOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>West-Siberian Department of the Sukachev Institute of Forest, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (WSD IF SB RAS) 630082, Novosibirsk, Zhukavskiy str., 100/1  
E-mail: selection@ksc.krasn.ru

<sup>2</sup>Sukachev Institute of Forest Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (WSD IF SB RAS) 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28

The results of the analysis of nuclear microsatellite loci (nSSR) for studying the genetic diversity of natural populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the southern taiga and forest-steppe of Middle and Western Siberia, affected by fires and logging of different intensity, are presented. Six polymorphic loci suitable for studying the genetic variability of the populations of the species in Siberia were selected. The set of genetic markers used by us has not been studied yet in the Siberian part of the species range. Population genetic studies were carried out in 13 Siberian populations of Scots pine (26 samples) based on selected nSSR markers (psyl57, PtTx2146, lw\_isotig04195, lw\_isotig04306, lw\_isotig10603, lw\_isotig21953), containing a total of 62 alleles. 15 of them were found only in any one (two) of the populations, and can be used to study the spatial and population structure of the species and determine the geographical boundaries of the populations. It has been established that their variability is significantly higher compared to isoenzyme markers, they contain a significant number of rare and very rare alleles and are quite informative for the purposes of genetic monitoring and assessment of the impact of forestry activities and other natural and anthropogenic damaging factors on intrapopulation genetic diversity and the sustainability of one of the main forest-forming coniferous species of Siberia. In the process of analyzing the similarity of populations of the species according to the studied markers, a certain relationship was revealed between the genetic differentiation of populations and their geographical location, which is often not detected when using isoenzyme markers.

**Key words:** Scots pine, genetic diversity, nuclear microsatellite markers, anthropogenic factors, Siberia.