

Демографическая история сосны обыкновенной в плейстоцене в Северной Евразии и Кавказском регионе на основе анализа ядерных микросателлитных локусов

Н. В. СЕМЕРИКОВ, И. В. ПЕТРОВА

Ботанический сад УрО РАН
620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а
E-mail: semerikov2014@mail.ru

Статья поступила 20.03.2023

После доработки 31.03.2023

Принята к печати 18.04.2023

АННОТАЦИЯ

С помощью девяти ядерных микросателлитных локусов (nSSR) изучена структура генетической изменчивости сосны обыкновенной в Черноморско-Кавказском регионе, Восточной Европе, на Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке и с помощью ABC-анализа исследована демографическая история этих групп популяций. Подтверждена значительная дифференциация между популяциями Восточного Причерноморья и основного ареала, при этом время дивергенции между данными группами оценено в 0,5 млн лет назад (л. н.). Обнаружена дифференциация популяций Большого Кавказа на западные и восточные, вероятно, обусловленная миграциями на Западный Кавказ восточно-европейских популяций. Показано сходство по nSSR популяций Крыма и Малой Азии, видимо, в результате их относительно недавней дифференциации. Анализ nSSR выявил существенную дифференциацию между популяциями Дальнего Востока и остальными популяциями северной части ареала. Время дивергенции между этими группами популяций оценено с помощью ABC-анализа в 97 тыс. л. н., что подтверждает выживание сосны обыкновенной на Дальнем Востоке во время последнего ледникового максимума.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., nSSR, генетическая изменчивость, рефугиумы, историческая демография.

ВВЕДЕНИЕ

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – важнейший лесообразователь Северной Евразии, характеризующийся чрезвычайно широкой экологической амплитудой и высокой генетической изменчивостью [Санников и др., 2012]. В таежной зоне Северной Евразии сосна распространена на значительной территории почти повсеместно в пределах своего ареала, однако в ледниковые фазы плейстоцена, согласно палеоэкологическим данным [Бляхар-

чук, 2010], радикально сокращала свой ареал, выживая в изолированных рефугиумах, имеющих стабильные условия, что оказало воздействие на структуру ее современного генофонда. В южных отдаленных частях ареала она образует в значительной степени изолированные анклавы. Такие популяции встречаются на Пиренейском, Апеннинском полуостровах, в Малой Азии, Крыму и на Кавказе.

Исследования изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК) у сосны обыкновенной

показали резкие генетические отличия популяций Пиренейского полуострова [Naydenov et al., 2007] и Восточного Причерноморья (ВП) [Naydenov et al., 2007; Semerikov et al., 2020] от остальных популяций, что говорит о давней изоляции данных групп популяций и об отсутствии их вклада в постледниковую реколонизацию. При этом основные источники постледниковой реколонизации у сосны обыкновенной находятся севернее, в районе Карпат, на Урале и, возможно, в Южной Сибири. Это подтверждают исследования изменчивости аллозимов, мтДНК и хлоропластных микросателлитов (cpSSR) [Naydenov et al., 2007; Санников и др., 2014; Семериков и др., 2014; Semerikov et al., 2018], а также палеоданные [Willis, van Andel, 2004; Binney et al., 2009; Бляхарчук, 2010].

В пределах ВП обнаружена сложная структура генетической дифференциации [Semerikov et al., 2020]. Выявлено три маркированные гаплотипами мтДНК группы популяций: Малая Азия, Малый Кавказ и Крым; Западный Кавказ; Восточный Кавказ. Предполагается, что сосна обыкновенная вначале мигрировала из Малой Азии через Малый Кавказ и Большой Кавказ в Крым, благодаря чему в Малой Азии, на Малом Кавказе и в Крыму оказался распространен общий гаплотип, а затем на Большом Кавказе обособилась группа популяций, маркированная производным гаплотипом. Позже благодаря гибридизации с мигрантами из Восточной Европы на Западном Кавказе оказались распространены гибриды, маркированные химерными гаплотипами.

Несмотря на то что в целом ледниковые рефугиумы сосны обыкновенной известны, как и основные географические группы популяций, время дивергенции между ними требует оценки. В частности, необходимо уточнить возраст отделения популяций ВП и основного ареала, также остается нерешенным вопрос о времени дивергенции выявленных на основе анализа мтДНК групп популяций в пределах ВП и времени миграции сосны с Русской равнины на Западный Кавказ. Для решения данных вопросов, как и в целом изучения исторической демографии сосны обыкновенной, необходимы исследования на основе моделирования популяционных процессов с помощью ABC (приближенных байесовских вычислений), использующих мультигенные

ядерные маркеры, такие как микросателлитные локусы (nSSR).

Предыдущие исследования генетической структуры сосны обыкновенной с использованием nSSR охватывали лишь отдельные части ареала сосны обыкновенной [Wójkiewicz et al., 2016; Tóth et al., 2019; Dering et al., 2021; Sheller et al., 2023], при этом оставшиеся регионы были не охвачены либо очень слабо охвачены данными исследованиями, в том числе Северный Кавказ, Крым, Русская равнина, Урал, Западная Сибирь, Якутия и Дальний Восток. Только в двух работах проводилось исследование исторической демографии, причем с применением малого количества выборок на ограниченной территории [Tóth et al., 2019; Dering et al., 2021].

Цель данного исследования состоит в изучении генетической структуры и исторической демографии популяций сосны обыкновенной в Черноморско-Кавказском регионе и в Северной Евразии. Задачи данного исследования включают оценки колебаний численности популяций сосны обыкновенной в последний ледниковый максимум, оценки возраста некоторых демографических событий, уточнение путей миграции в пределах ВП, оценки времени и генетического вклада миграций с Русской равнины в ВП, а также установление роли южных рефугиумов в постледниковой реколонизации основной части ареала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использованный материал и лабораторные методы. С помощью 9 nSSR локусов проанализировано 35 популяций *Pinus sylvestris* в основной части ареала и в ВП со средней численностью выборки 24,3 (табл. 1).

Большинство образцов было использовано ранее для изучения изменчивости митохондриальной и хлоропластной ДНК [Semerikov et al., 2018, 2020]. Анализировались следующие локусы: lw_isotig04306, lw_isotig10603, lw_isotig06440, lw_isotig20215 [Fang et al., 2014]; psyl2, psyl42 [Sebastiani et al., 2012]; PtTx3025, PtTx2146 [Elsik et al., 2000]; SPAC12.5 [Soranzo et al., 1998]. Анализ проводился в двух мультиплексах. Для всех локусов в первом мультиплексе и для локусов lw_isotig06440 и psyl42 во втором мультиплексе применялась совместная амплифика-

Характеристика 35 исследованных популяций сосны обыкновенной и параметры изменчивости по данным анализа девяти ядерных микросателлитных локусов

№	Популяция	Широта	Долгота	N	N_a	N_e	H_o	H_e	r_{11}	P
Восточное Причерноморье										
1	Озеро Рица (III)*	43,28	40,32	26	6,2	3,4	0,581	0,642	4,9	0
2	Гузерибль (III)	43,59	40,07	24	6,7	3,5	0,556	0,633	5,2	2
3	Большой Утриш (III)	44,45	37,25	34	6,7	3,4	0,592	0,635	4,9	0
4	Осетия (III)	42,55	44,11	25	5,8	3,1	0,570	0,634	4,6	0
5	Соленовский котел (III)	43,59	40,48	24	6,4	3,9	0,651	0,684	5,4	0
6	Белоканы (III)	41,43	46,25	15	3,9	2,2	0,471	0,525	3,7	0
7	Теберда (III)	43,22	41,44	25	6,1	3,1	0,618	0,635	4,9	1
8	Дагестан-1 (I)	42,25	47,03	24	5,6	3,7	0,609	0,649	4,8	0
9	Дагестан-2 (I)	42,24	46,54	24	6,1	3,8	0,642	0,674	5,2	4
10	Дагестан-3 (I)	42,19	47,09	24	6,0	3,6	0,589	0,670	4,9	0
11	Кастамону (I)	41,23	33,44	24	6,9	4,2	0,639	0,695	5,6	3
12	Карс (I)	40,17	42,33	27	7,7	4,1	0,691	0,715	5,7	1
13	Гурзуф (I)	44,33	34,16	24	7,6	4,4	0,648	0,699	5,9	0
14	Крымский з-к (I)	44,34	34,13	24	6,8	3,9	0,643	0,650	5,3	3
Основной ареал										
15	Словакия (V)	48,67	19,70	11	5,4	3,6	0,677	0,692	5,4	1
16	Таллин (V)	59,38	24,63	36	7,6	3,9	0,641	0,680	5,4	1
17	Пирин (V)	41,48	23,28	30	7,9	4,6	0,713	0,716	5,8	1
18	Тверь (V)	56,75	36,00	24	6,6	3,9	0,720	0,692	5,3	1
19	Домжерицы (V)	54,73	28,30	24	6,6	3,8	0,713	0,684	5,3	0
20	Чаадаевка (V)	53,13	45,97	24	7,1	3,9	0,713	0,710	5,7	0
21	Навлинское (V)	52,80	34,52	24	7,4	4,4	0,659	0,701	5,8	1
22	Йошкар-Ола (IV)	56,60	47,93	21	7,0	3,9	0,674	0,698	5,8	1
23	Плесецк (IV)	63,33	41,08	24	6,9	3,7	0,646	0,688	5,4	0
24	Петрозаводск (IV)	61,78	34,27	24	6,9	4,0	0,741	0,719	5,5	1
25	Ай (IV)	55,97	58,20	24	7,2	4,2	0,669	0,697	5,7	3
26	Екатеринбург (IV)	56,78	60,55	24	7,2	4,0	0,691	0,696	5,6	1
27	Тюмень (IV)	57,10	65,50	25	6,9	3,7	0,656	0,663	5,2	2
28	Тобольск (IV)	58,17	68,37	23	6,0	3,3	0,670	0,662	4,9	0
29	Ивдель (IV)	60,71	60,39	24	7,0	4,4	0,707	0,685	5,5	0
30	Карагай-Покровка (II)	51,63	57,90	24	6,6	4,0	0,642	0,666	5,3	0
31	Ульхан (V)	49,23	112,62	24	6,0	4,1	0,757	0,710	5,2	2
32	Красноярск (IV)	56,00	92,63	24	6,3	3,5	0,662	0,662	5,1	1
33	Якутия (II)	62,05	129,62	24	4,8	3,0	0,574	0,616	4,1	0
34	Сковородино (II)	54,00	123,93	17	5,2	3,5	0,547	0,602	4,7	1
35	Алдан (II)	58,62	125,38	30	6,4	3,4	0,598	0,609	4,8	0
Среднее				24,3	6,5	3,7	0,645	0,668	6,1	0,9

Примечание. N – величина выборки; N_a – среднее число аллелей; N_e – эффективное среднее число аллелей; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая несмещенная гетерозиготность; r_{11} – стандартизованное среднее число аллелей; P – число частных аллелей.

* В скобках указан кластер, выявленный в STRUCTURE, соответствующий также группе популяций для AMOVA, доля которого преобладает в генофонде популяции (см. рис. 2).

ция в общем растворе (мультиплекс). Локусы lw_isotig20215 и PtTx2146 амплифицировались отдельно, после чего продукты амплификации добавлялись в общий продукт второго мультиплекса. Прямые праймеры были мечены флуоресцентными красителями: в первом

мультиплексе – 6-FAM: lw_isotig04306; R6G: lw_isotig10603, PtTx3025, SPAC12.5; ROX: psy12, во втором – 6-FAM: lw_isotig06440; TAMRA: psy142; ROX: lw_isotig20215, PtTx2146. ПЦР проводили в 10 мкл, содержащих 10 × ПЦР буфер AS (НПО “СибЭнзим”,

Россия) – 1 мкл, $MgCl_2$ (раствор 25 mM) – 1,6 мкл, DMSO – 0,1 мкл, смесь dNTP (раствор по 10 mM каждого) – 0,2 мкл, Taq-полимераза (5 U/мкл, СибЭнзим) – 0,1 мкл, праймеры (раствор 10 μM) – по 0,2 мкл, ДНК образца (концентрация 10–100 ng/ μL) – 1 мкл. Остальной объем составляла вода. Для амплификации мультиплексов использована программа ПЦР: предварительная денатурация 94 °C – 5 мин, 35 циклов амплификации: 94 °C – 30 с, 58 °C – 3 мин, 72 °C – 45 с, финальная элонгация 72 °C – 30 мин. Для амплификации локуса *lw_isotig20215* применена программа: предварительная денатурация 94 °C – 5 мин, 35 циклов амплификации: 94 °C – 30 с, 58 °C – 90 с, 72 °C – 45 с, финальная элонгация 72 °C – 7 мин. Амплификация локуса *PtTx2146* осуществлялась по программе: предварительная денатурация 94 °C – 5 мин, 10 циклов амплификации: 94 °C – 30 с, 60 °C – 20 с с понижением на 0,5 °C каждый следующий цикл, 72 °C – 30 с, 30 циклов амплификации: 94 °C – 30 с, 55 °C – 20 с, 72 °C – 30 с, финальная элонгация 72 °C – 3 мин. Анализ продуктов амплификации проводился на секвенаторе НАНО-ФОР 05 (ИАП РАН, Россия) с применением размерного стандарта S550 (ООО “ГОРДИЗ”, Россия).

Анализ данных. Генотипирование осуществлялось в программе GeneMapper™ v. 4.0 (Applied Biosystems, США). Переведенные в данной программе в числовую форму результаты в виде длин аллелей в п. н. были подвергнуты обработке в макросе для Microsoft Excel GenAlEx 6.502 [Peakall, Smouse, 2012] с целью получения основных генетических параметров (всех указанных в табл. 1, кроме r_{11}) и экспорта данных в другие программы. Для оценки стандартизованного для минимальной выборки (r_{11}) среднего числа аллелей в популяциях использована программа FSTAT v 2.9.4 [Goudet, 2005].

Ординация (PCoA) на основе парных F_{ST} была построена в GenAlEx 6.502. Проверка значимости различий между R_{ST} и пермутированным rR_{ST} (что соответствует F_{ST}) для оценки существования филогеографической структуры реализована в программе SpaGeDi 1.3d [Hardy, Vekemans, 2002]. Тест Мантелла на корреляцию парных межпопуляционных F_{ST} и географических дистанций проведен в

ARLEQUIN 3.5 [Excoffier, Lischer, 2010] на основе 10 000 пермутаций.

Байесовская кластеризация популяций и индивидуумов в STRUCTURE 2.3.4. Отнесение индивидуумов и популяций к генетически отдельным группам (кластерам) проведено с использованием байесовского метода кластеризации с помощью программы STRUCTURE 2.3.4 [Pritchard et al., 2000]. В анализе применено условие коррелированных частот аллелей и использована модель “admixture”. Анализ проводился для K от 1 до 10, для каждого из которых выполнено 10 прогонов с длиной периода “burn-in” 100 000 и периода записи 200 000 итераций. Оценки значений DeltaK [Evanno et al., 2005] получены в веб-приложении STRUCTURE HARVESTER [Earl, von Holdt, 2012]. В веб-приложении CLUMPAK [Kopelman et al., 2015] проведена оценка наиболее вероятного K по методу, рекомендованному [Pritchard et al., 2000], а также построены сводные диаграммы кластеризации для каждого K . На основе результатов байесовской кластеризации проведен трехуровневый иерархический анализ генетической изменчивости (AMOVA) в ARLEQUIN 3.5, оценка значимости которого получена с помощью 1000 симуляций.

ABC-анализ. Для исследования исторической демографии сосны обыкновенной на основе анализа nSSR использован метод приближенных байесовских вычислений (ABC), реализованный в DIYABC v. 2.1.0 [Cornuet et al., 2014]. Для каждой демографической модели сгенерировано 10^6 коалесцентных генеалогий (симуляций), для каждой из которых рассчитана совокупность статистических данных (summary statistics): среднее число аллелей, среднее расстояние между аллелями, среднее генетическое разнообразие и средний индекс M по локусам [Cornuet et al., 2014] в каждой популяции; среднее число аллелей, среднее расстояние между аллелями, среднее генетическое разнообразие, общие аллельные дистанции между популяциями [Cornuet et al., 2014] и межпопуляционное F_{ST} для двух или трех популяций, и проведено сравнение с наблюдаемыми значениями. В ходе симуляций значения параметров модели брались случайно из априорных распределений (приор). Частота мутаций принята в диапазоне 10^{-6} – 10^{-4} на поколение в целом и в диапа-

зоне $10^{-6} - 10^{-2}$ для отдельных локусов. Пределы выбирались таким образом, чтобы в их окрестностях апостериорное значение было близко к нулю и соответствовало данным [Provan et al., 1999]: $3,2 \times 10^{-5}$ и $7,9 \times 10^{-5}$ на поколение. Общий коэффициент распределения P задан в диапазоне $10^{-1} - 1$, для отдельных локусов – $10^{-2} - 1$ [Cornuet et al., 2014]. Остальные, общие для всех моделей, приоры и условия заданы по умолчанию в программе DIYABC v. 2.1.0 [Cornuet et al., 2014]. 1000 симуляций, наиболее близких к наблюдаемым генетическим данным по значениям “summary statistics”, использовались для вычисления апостериорных распределений параметров модели с применением локальной линейной регрессии. Продолжительность поколения предполагалась равной около 100 лет [Provan et al., 1999].

Группы популяций, включенные в ABC-анализ, составлены на основе результатов STRUCTURE. В группу “Кавказ” вошли популяции под номерами 1, 3, 4, 7–10; в группу “Восточный Кавказ” – 8, 9, 10; в группу “Западный Кавказ” – 1, 3, 4, 7; в группу “основной ареал” – 20–24, 26–29, 31, 32; в группу “Дальний Восток” – 33, 34, 35 (см. табл. 1).

Для оценки времени дивергенции между популяциями основного ареала и популяциями Восточного Кавказа как генетически наиболее отличными от основного ареала, а также оценки времени образования группы популяций “Западный Кавказ”, относящейся к отдельной группе STRUCTURE (см. табл. 1), первоначально было предложено две демографические модели. Для всех моделей численность группы популяций “Восточный Кавказ” ($N1$) ограничена 40 тыс., “основной ареал” ($N2$) – 100 тыс., “Западный Кавказ” ($N3$) – 60 тыс. индивидуумов.

Модель № 1 предполагает первоначальную дивергенцию популяций $N1$ и $N2$, соответствующую времени $t3$ (предел 7000 поколений), и последующую дивергенцию популяций $N1$ и $N3$, соответствующую времени $t2$ (предел 3000 поколений) (рис. 1).

Модель № 2 предполагает первоначальную дивергенцию популяций $N1$ и $N2$, соответствующую времени $t3$ (предел 7000 поколений), и последующую гибридизацию между популяциями $N1$ и $N2$, соответствующую времени $t1$ (предел 2000 поколений), с образо-

ванием популяции $N3$ (см. рис. 1). В модель также введен параметр r – коэффициент смешения между популяциями $N1$ и $N3$ с установленными пределами от 0,5 до 0,999.

Модель № 3 предполагает первоначальную дивергенцию популяций $N1$ и $N2$, соответствующую времени $t3$ (предел 7000 поколений), далее следует дивергенция популяции $N1$ и гипотетической предковой для группы популяций Западного Кавказа популяции $N4$ (предел 40 тыс. индивидуумов), соответствующая времени $t2$ (предел 3000 поколений), после чего следует гибридизация между популяциями $N4$ и $N2$ с образованием $N3$, что соответствует времени $t1$ (предел 2000 поколений) (см. рис. 1). Параметр r – коэффициент смешения между популяциями $N4$ и $N3$ задан в пределах от 0,5 до 0,999.

Наиболее вероятную модель из № 1–3 определяли путем вычисления их апостериорных вероятностей с использованием логистической регрессии на основе 1 % симулированных данных, наиболее близких к исходным. Достоверность выбора сценария оценивалась путем создания 1000 наборов данных из приорных значений с вычислением ошибки первого и второго рода.

Оценка времени дивергенции группы популяций основного ареала и группы популяций Дальнего Востока, относящейся к отдельной группе STRUCTURE, проведена с помощью демографической модели (№ 4), в которой $N1$ с пределом 40 тыс. индивидуумов – группа популяций “Дальний Восток”, $N2$ с пределом 110 тыс. индивидуумов – группа популяций “основной ареал”, t – время дивергенции между двумя группами (предел 4000 поколений) (см. рис. 1).

С целью оценки динамики численности популяций сосны обыкновенной за период, охватывающий средневалдайскую стадию, последний ледниковый максимум и постледниковье, были использованы демографические модели, предполагающие увеличение численности от N_e до $N1$ во время t (табл. 2) для групп популяций “Кавказ”, “основной ареал” и “Дальний Восток” (модели С, М, F соответственно).

Пригодность демографических моделей оценивали путем сравнения сводной статистики реального набора данных анализа nSSR с 10 000 имитированных априорных и 1000 апостериорных распределений.

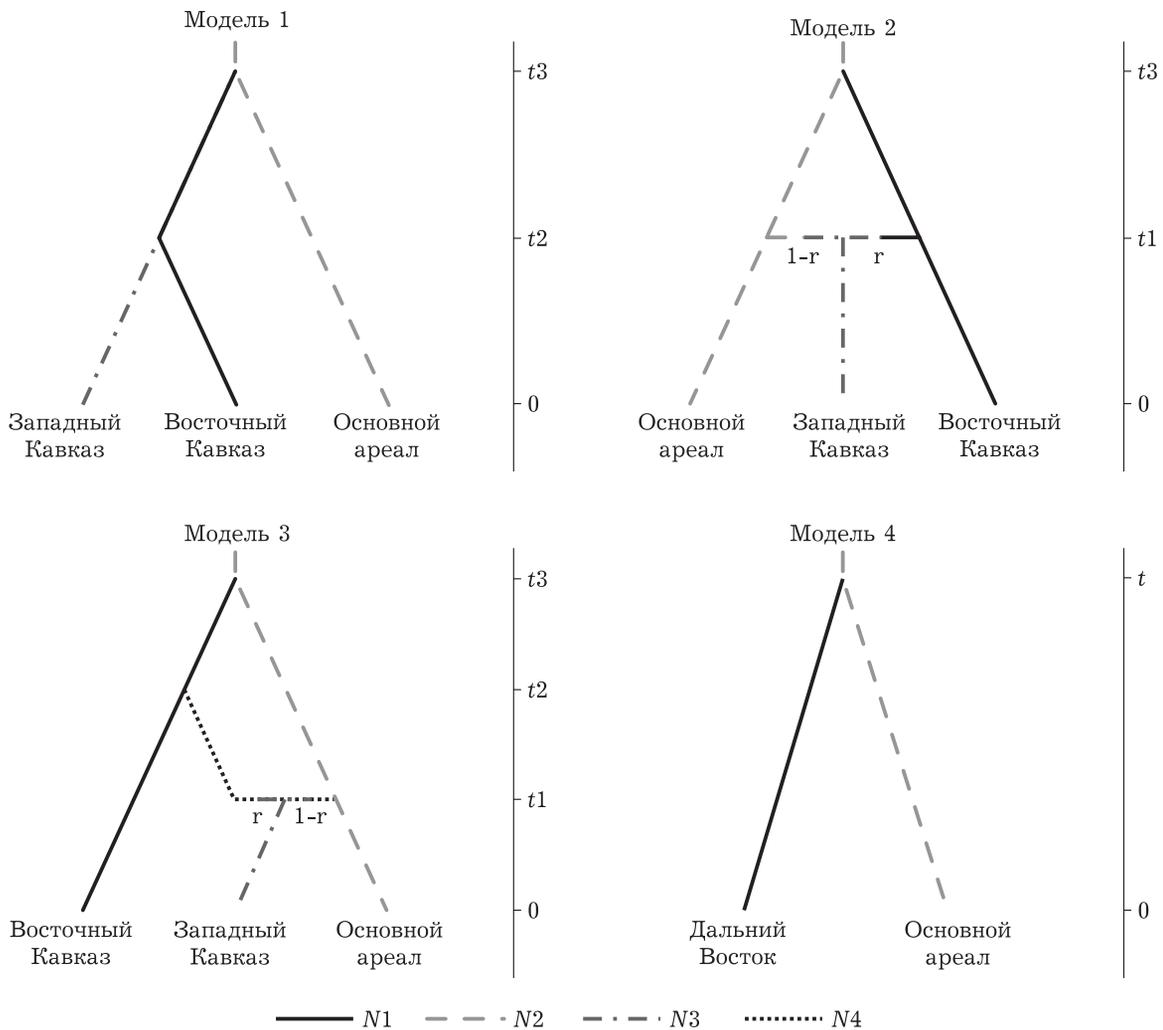


Рис. 1. Демографические модели № 1–4, использованные в ABC. Обозн. см. в тексте

Моделирование ареала *P. sylvestris*. Использовалось средовое моделирование ниш, основанное на данных о распространении *P. sylvestris* в Евразии в настоящее время и о климатических параметрах в настоящем и прошлом на территории Евразии для реконструкции предполагаемого ареала вида во время последнего ледникового максимума (ПЛМ) (ок. 20000 л. н.). Для этого были применены метод машинного обучения и критерий максимальной энтропии, реализованные в программе MAXENT 3.3.3 [Phillips et al., 2006].

Так как ареал *P. sylvestris* в основном сплошной, в качестве данных о распространении использовали координаты точек, равномерно расположенных в основной части ареала с шагом в 1° широты и долготы, а также точки из отдаленных фрагментов ареала. Карта ареала *P. sylvestris* была взята с сайта

(URL: <http://www.euforgen.org/species/pinus-sylvestris/>). Климатические параметры, использованные в моделировании, соответствуют использованным в [Semerikov et al., 2020].

РЕЗУЛЬТАТЫ

По всем исследованным популяциям выявлены слабо варьирующие значения гетерозиготности (см. табл. 1), типичные для сосны обыкновенной по nSSR и несколько большие, чем в предыдущих исследованиях европейской части ареала [Wójcikiewicz et al., 2016; Tóth et al., 2019; Dering et al., 2021; Sheller et al., 2023]. Несколько меньшая изменчивость установлена лишь в части популяций Кавказа и Дальнего Востока (см. табл. 1). Межпопуляционная дифференциация ($F_{ST} = 0,054$; $P < 0,001$) превышает [Wójcikiewicz et al., 2016]

Т а б л и ц а 2

Параметры демографических моделей (С, М, F) для *Pinus sylvestris*, вычисленные в DIYABC с использованием ABC

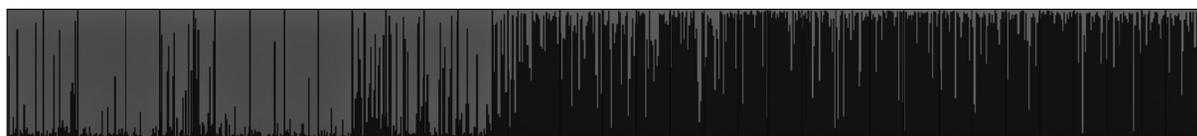
Параметр	Априорное распределение	Апостериорное распределение		
		Мода	95 % доверительный интервал	
Модель "С"				
N_1	10^{-10^5}	$8,65 \times 10^4$	$2,31 \times 10^4$	$9,85 \times 10^4$
t	10–500	333	26,3	487
N_e	$10^{-6} \times 10^4$	$1,64 \times 10^4$	$7,31 \times 10^3$	$5,49 \times 10^4$
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$5,69 \times 10^{-5}$	$1,59 \times 10^{-5}$	$9,69 \times 10^{-5}$
Модель "М"				
N_1	$10^{-1,2} \times 10^5$	$1,11 \times 10^5$	$2,40 \times 10^4$	$1,18 \times 10^5$
t	10–700	615	39,7	681
N_e	$10^{-6} \times 10^4$	$1,18 \times 10^4$	$6,97 \times 10^3$	$5,32 \times 10^4$
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$4,97 \times 10^{-5}$	$1,82 \times 10^{-5}$	$9,84 \times 10^{-5}$
Модель "F"				
N_1	$10^{-6} \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	$1,37 \times 10^4$	$5,89 \times 10^4$
t	10–500	260	24,2	485
N_e	$10^{-3} \times 10^4$	$9,08 \times 10^3$	$5,44 \times 10^3$	$2,82 \times 10^4$
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$4,44 \times 10^{-5}$	$2,14 \times 10^{-5}$	$9,82 \times 10^{-5}$

П р и м е ч а н и е. t – число поколений; μ – число мутаций на поколение.

или близка к таковой [Tóth et al., 2019], прежде выявленной для европейских популяций. Тест Мантела на корреляцию парных межпопуляционных F_{ST} и географических дистанций значим ($R = 0,232$; $P = 0,025$), как и в предыдущем исследовании [Sheller et al., 2023], указывая на значение изоляции расстоянием. Параметр межпопуляционной дифференциации, вычисленный с учетом дистанций как сумма квадратов разниц длин аллелей ($R_{ST} = 0,10$; $P < 0,001$), значимо превышает F_{ST} ($P = 0,001$; 10^4 пермутаций), что контрастирует с результатами предыдущего исследования [Wójcikiewicz et al., 2016] и говорит о наличии филогеографической структуры.

Анализ генетической структуры популяций с помощью байесовской кластеризации показал деление генофонда популяций сосны обыкновенной на пять кластеров как наиболее обоснованное, что подтверждено критерием, указанным в [Pritchard et al., 2000] (рис. 2). При этом по критерию DeltaK наиболее обосновано выделение двух кластеров, распределение которых соответствует делению популяций на основной ареал и Восточное Причерноморье (см. табл. 1, рис. 2). Однако мы далее будем рассматривать деление на пять кластеров, так как это имеет наибольший смысл с точки зрения филогеографии.

$K = 2$



$K = 5$

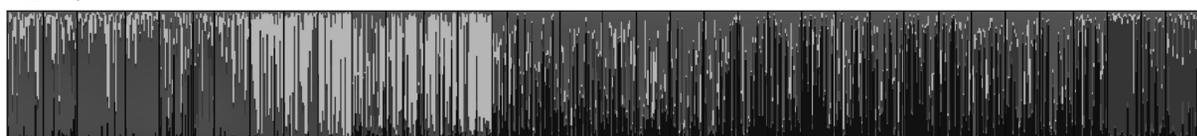


Рис. 2. Диаграмма распределения кластеров, выявленных с помощью STRUCTURE для $K = 2$, $K = 5$, в популяциях и индивидуумах сосны обыкновенной. Нумерацию популяций см. в табл. 1

В пределах популяций Восточного Причерноморья выявлено два кластера. Кластер I имеет наибольшие частоты в популяциях Малой Азии и Крыма и преобладает на Восточном Кавказе. Кластер III имеет превосходство на Западном, Центральном Кавказе и в Закавказье (рис. 3). В основной части ареала распространены три кластера. Кластеры IV и V примерно поровну распределены и доминируют от Восточной Европы до Монголии. Кластер II плевалирует на Дальнем Востоке и в Якутии (см. рис. 3).

Деление популяций на группы для анализа AMOVA соответствует преобладающим в популяциях кластерам. Выявлена значимая доля межгрупповой дифференциации (2,8 %) для пяти групп, более высокая, чем в предыдущем исследовании для европейских популяций [Wójcikiewicz et al., 2016] (табл. 3).

Следует отметить наибольшую дифференциацию между популяциями основного ареала и ВП ($F_{ST} = 0,032$; $P < 0,001$), а также значительную дифференциацию в пределах ВП ($F_{ST} = 0,060$; $P < 0,001$) по сравнению с основным ареалом ($F_{ST} = 0,024$; $P < 0,001$) (рис. 4), что было показано ранее по данным анализа митохондриальных маркеров и хлоропластных микросателлитов [Semerikov et al., 2020].

Оценка динамики численности популяций для основных групп популяций. Для группы “Кавказ” время t было оценено в 33 тыс. л. н., когда численность возрасла в 5 раз, достигнув современного уровня (N_1) (модель С). Для группы “основной ареал” t оценено в 61 тыс. л. н. и численность N_e была меньше современной в 9 раз (модель М). Для группы “Дальний Восток” t оценено в 26 тыс. л. н. и численность меньше современной в 5,5 раза (модель F) (см. табл. 2).

Оценка времени дивергенции групп популяций “Восточный Кавказ” и “основной ареал” и образования группы популяций “Западный Кавказ”. На основе модели № 1 получены оценки времени расхождения групп популяций основного ареала и Восточного Кавказа (t_3) в 512 тыс. л. н. и времени расхождения групп популяций Восточного и Западного Кавказа (t_2) в 116 тыс. л. н. (табл. 4).

Модель № 2 предложена, основываясь на нашей гипотезе о вторичном проникновении сосны обыкновенной из Русской равнины на Западный Кавказ, что привело к закреплению там рекомбинантного гаплотипа мтДНК [Semerikov et al., 2020]. На ее основе получены оценки времени расхождения групп популяций основного ареала и Восточного Кавказа (t_3) в 336 тыс. л. н. и времени гибридизации

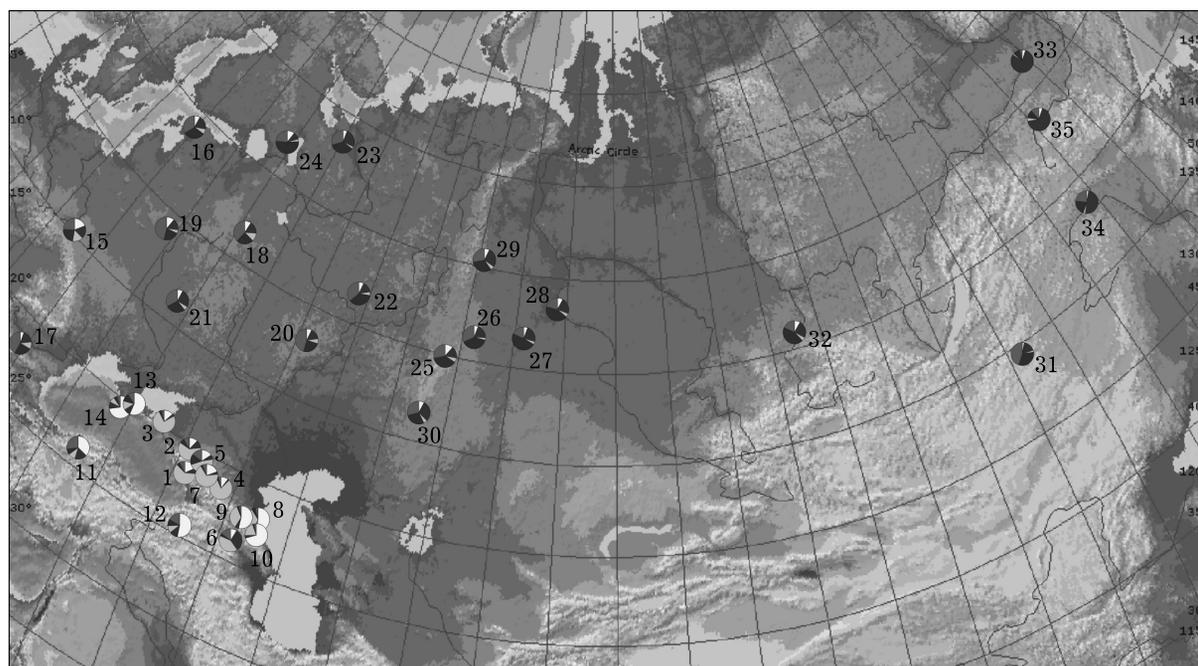


Рис. 3. Карта популяций сосны обыкновенной с диаграммами распределения кластеров STRUCTURE. Нумерацию популяций см. в табл. 1

Иерархический анализ генетической изменчивости (AMOVA) ядерных микросателлитных локусов, основанный на делении популяций *Pinus sylvestris* на пять групп исходя из кластеризации в STRUCTURE

Компонента изменчивости	Степень свободы	Сумма квадратов	Вариационная компонента	Доля изменчивости
Между группами	4*	145,87 (71531,80)	0,088 (47,630)	2,79 (7,22)
Между популяциями внутри групп	30*	210,17 (56756,39)	0,084 (27,072)	2,66 (4,10)
Внутри популяций	1663*	4944,75 (973472,85)	2,973 (585,372)	94,56 (88,68)
	Индекс фиксации		Значимость (P)	
F_{ST} (R_{ST})	0,054 (0,113)		<0,00001*	
F_{SC}	0,027 (0,044)		<0,00001*	
F_{CT}	0,028 (0,072)		<0,00001*	

Примечание. В скобках приведены значения для AMOVA с учетом дистанций как сумма квадратов разниц длин аллелей (R_{ST}), значения без скобок приведены для метода вычисления дистанций по числу различных аллелей (F_{ST}).

* Значения совпадают для обоих методов.

между группами популяций основного ареала и Восточного Кавказа с образованием группы популяций Западного Кавказа (t_1) в 100 тыс. л. н. и коэффициентом смещения $r = 0,968$ (см. табл. 4).

Учитывая сопоставимые оценки времени расхождения групп популяций основного ареала и Восточного Кавказа и близкие оценки времени образования группы популяций Западного Кавказа путем гибридизации и в результате дивергенции, можно предположить, что дивергенция двух групп популяций на Кавказе предшествовала гибридизации меж-

ду популяциями Западного Кавказа и Русской равнины. Исходя из этого, предложена модель № 3. По результатам моделирования получены оценки времени расхождения групп популяций основного ареала и Восточного Кавказа (t_3) в 552 тыс. л. н., времени расхождения между группой популяций Восточного Кавказа и предковой группой популяций (N4) Западного Кавказа (t_2) в 149 тыс. л. н., времени гибридизации между группой популяций основного ареала и предковой группой популяций (N4) Западного Кавказа с образованием современной группы популяций Западного

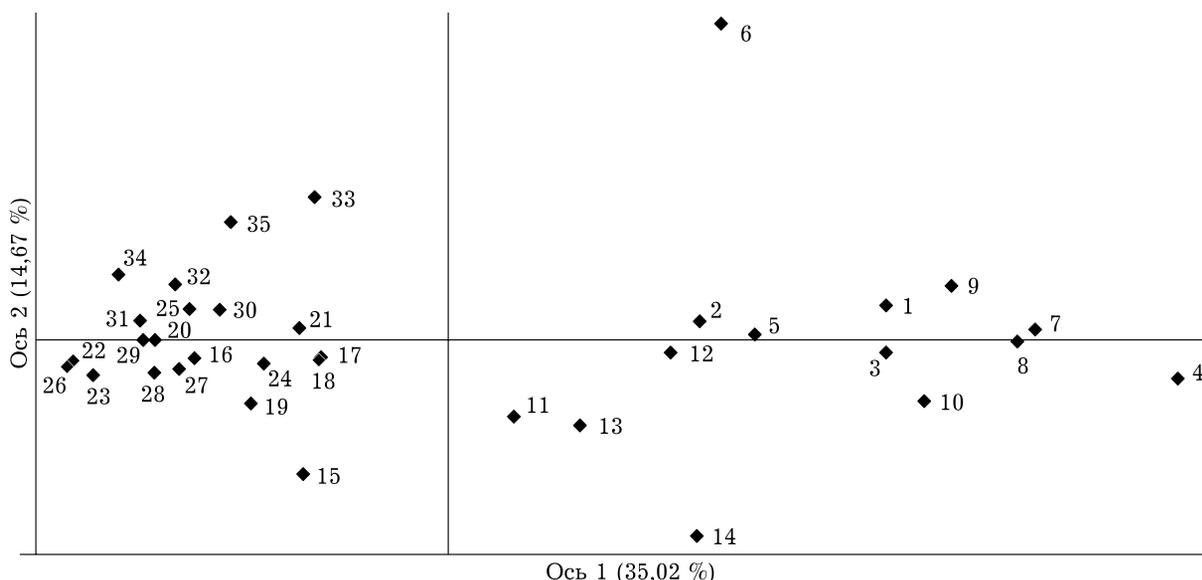


Рис. 4. Ординация 35 популяций сосны обыкновенной на основе изменчивости девяти ядерных микросателлитов. Нумерацию популяций см. в табл. 1

Т а б л и ц а 4

Параметры демографических моделей (1–4) для *Pinus sylvestris*, вычисленные в DIYABC с использованием ABC

Параметр	Априорное распределение	Апостериорное распределение		
		Мода	95 % доверительный интервал	
Модель № 1				
<i>N</i> 1	$10^{-4} \times 10^4$	$1,59 \times 10^4$	$6,53 \times 10^3$	$3,69 \times 10^4$
<i>N</i> 2	$10 - 10^5$	$4,86 \times 10^4$	$2,12 \times 10^4$	$8,47 \times 10^4$
<i>N</i> 3	$10^{-6} \times 10^4$	$4,16 \times 10^4$	$1,21 \times 10^4$	$5,85 \times 10^4$
<i>t</i> 2	$10 - 3000$	1160	333	2600
<i>t</i> 3	$10 - 7000$	5120	2380	6870
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$4,25 \times 10^{-5}$	$2,53 \times 10^{-5}$	$9,42 \times 10^{-5}$
Модель № 2				
<i>N</i> 1	$10^{-4} \times 10^4$	$1,19 \times 10^4$	$4,32 \times 10^3$	$3,58 \times 10^4$
<i>N</i> 2	$10 - 10^5$	$5,78 \times 10^4$	$2,23 \times 10^4$	$8,86 \times 10^4$
<i>N</i> 3	$10^{-6} \times 10^4$	$2,40 \times 10^4$	$4,88 \times 10^3$	$5,44 \times 10^4$
<i>t</i> 1	$10 - 2000$	1000	262	1900
<i>r</i>	0,500 – 0,999	0,968	0,692	0,995
<i>t</i> 3	$10 - 7000$	3360	1180	6710
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$4,54 \times 10^{-5}$	$1,99 \times 10^{-5}$	$9,17 \times 10^{-5}$
Модель № 3				
<i>N</i> 1	$10^{-4} \times 10^4$	$1,93 \times 10^4$	$8,69 \times 10^3$	$8,69 \times 10^4$
<i>N</i> 2	$10 - 10^5$	$6,65 \times 10^4$	$3,33 \times 10^4$	$9,33 \times 10^4$
<i>N</i> 3	$10^{-6} \times 10^4$	$2,35 \times 10^4$	$6,58 \times 10^3$	$5,83 \times 10^4$
<i>N</i> 4	$10^{-4} \times 10^4$	$1,67 \times 10^4$	$2,92 \times 10^3$	$3,85 \times 10^4$
<i>t</i> 1	$10 - 2000$	194	29,7	1720
<i>r</i>	0,500 – 0,999	0,961	0,639	0,992
<i>t</i> 2	$10 - 3000$	1490	563	2790
<i>t</i> 3	$10 - 7000$	5520	2920	6920
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$3,11 \times 10^{-5}$	$1,23 \times 10^{-5}$	$7,85 \times 10^{-5}$
Модель № 4				
<i>N</i> 1	$10^{-4} \times 10^4$	$1,63 \times 10^4$	$4,30 \times 10^3$	$3,80 \times 10^4$
<i>N</i> 2	$10^{-1,1} \times 10^5$	$7,63 \times 10^4$	$2,79 \times 10^4$	$1,06 \times 10^5$
<i>t</i>	$10 - 4000$	975	316	3460
μ	$10^{-6} - 10^{-4}$	$1,20 \times 10^{-5}$	$5,37 \times 10^{-6}$	$6,57 \times 10^{-5}$

П р и м е ч а н и е. *t* – число поколений; μ – число мутаций на поколение.

Кавказа (*t*1) в 19,4 тыс. л. н. Коэффициент смешения $r = 0,961$ (см. табл. 4).

Учитывая наибольшую апостериорную вероятность модели № 3 – 0,374, вычисленную в сравнении с моделями № 1 и № 2, последнюю следует считать наиболее точно соответствующей исходным данным (табл. 5).

Оценка времени дивергенции групп популяций “основной ареал” и “Дальний Восток”. По результатам моделирования время дивергенции между популяциями основного ареала и Дальнего Востока оценено в 97,5 тыс. л. н. (см. табл. 4).

Проверка моделей показала, что реальный набор данных приблизительно соответствует наборам данных, смоделированным из апостериорных распределений параметров моделей.

Реконструкция ареала сосны обыкновенной во время ПЛМ. По результатам моделирования экологических ниш в MAXENT 3.3.3 для сосны обыкновенной получены вероятные ареалы распространения вида с отображением реконструируемой плотности распространения для настоящего времени и для ПЛМ (рис. 5). Реконструируемое распространение для насто-

Т а б л и ц а 5

Апостериорные вероятности моделей № 1–3 и их 95 % доверительные интервалы (CI),
а также ошибки I и II рода согласно анализу DIYABC

Модель	Апостериорная вероятность	95 % CI [нижний – верхний]	Ошибка I/II рода
1	0,3657	[0,3258–0,4057]	0,26/0,34
2	0,2602	[0,2261–0,2943]	0,43/0,48
3	0,3741	[0,3321–0,4160]	0,47/0,31

ящего времени в целом совпало с реальным ареалом *P. sylvestris*.

При этом распространение в ПЛМ оказалось существенно отличным от современного, что выразилось в смещении ареала к югу по сравнению с современным. Север Русской равнины и значительная часть Сибири в соответствии с данной моделью оказались непригодными для обитания сосны обыкновенной в ПЛМ. При этом сохранялась высокая плотность распространения на Южном Урале и в горах Южной Сибири, а также на юге Дальнего Востока. Сохранялась также уз-

кая полоса распространения в южной части Западно-Сибирской равнины (рис. 5, б).

С другой стороны, плотность распространения сосны обыкновенной значительно увеличилась в горах Кавказа и в Малой Азии, главным образом вдоль побережья Черного моря и в Болгарии. Также увеличилось присутствие *P. sylvestris* к северу от Кавказа. При этом между зонами с высокой плотностью распространения сосны обыкновенной в районе Кавказа и на Русской равнине по результатам моделирования имелись условия, пригодные для существования сосны,

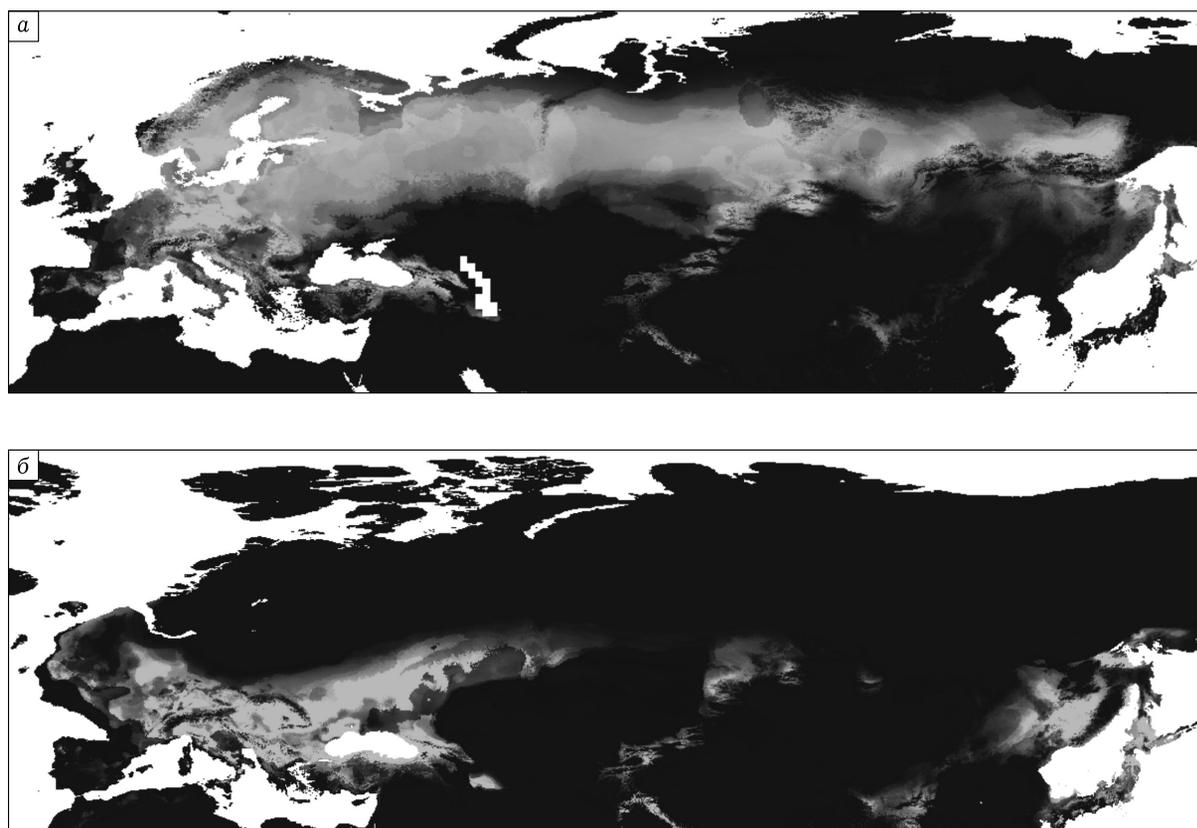


Рис. 5. Моделирование палеоареала *P. sylvestris* в MAXENT для настоящего времени (а) и для последнего ледникового максимума (б)

хотя и менее благоприятные, чем в зонах оптимума (рис. 5, б).

ОБСУЖДЕНИЕ

На развитие современного ареала сосны обыкновенной решающее влияние оказали периоды оледенений [Нейштадт, 1957; Binney et al., 2009]. Данные, полученные на основе мтДНК [Naydenov et al., 2007; Semerikov et al., 2018], позволяют предполагать, что во время одного или нескольких плейстоценовых оледенений сосна обыкновенная сохранялась только в рефугиумах Европы, Малой Азии и Кавказа, поскольку в популяциях Северного Китая и Западной Сибири присутствует единственный гаплотип, встречающийся в основной части Европы. Это предполагает существенное влияние эффекта основателя на современный генофонд популяций.

Результаты ABC-моделирования за периоды позднего плейстоцена и голоцена показывают, что прошлая численность популяций сосны обыкновенной была меньше современной в несколько раз до момента, оцениваемого от 26 до 61 тыс. л. н. для разных групп популяций (см. табл. 2). Таким образом, минимум численности сосны обыкновенной соответствует периоду, предшествующему последнему ледниковому максимуму либо его началу. В предыдущих исследованиях nSSR получены сходные оценки для популяций Восточной Европы (Карпаты, Паннонский бассейн) [Tóth et al., 2019]. Также приведенные оценки согласуются с палеоданными, демонстрирующими расширение ареала сосны обыкновенной и увеличение доли сосновых лесов в конце плейстоцена – начале голоцена [Tarasov et al., 2000; Arslanov et al., 2007; Velichko et al., 2009; Бляхарчук, 2010; Magyari et al., 2014; Binney et al., 2017; Brewer et al., 2017; Williams et al., 2018; Tóth et al., 2019; Cao et al., 2020].

Результаты анализа nSSR показали глубокую дифференциацию между популяциями ВП и популяциями основного ареала, включая Балканы. Это наглядно демонстрирует РСoA-ординация (см. рис. 4) и результаты байесовской кластеризации: при $K = 2$ популяции ВП и основного ареала почти полностью соответствуют двум разным кластерам (см. рис. 2), при $K = 5$ кластеры также четко делятся между ВП и основным ареалом (см. рис. 2).

Значительная генетическая дифференциация между популяциями ВП (в пределах Крыма и Малой Азии) и основного ареала была обнаружена по данным анализа nSSR и в предыдущем исследовании, причем сходные уровни дифференциации были обнаружены лишь между популяциями южной Испании и основного ареала [Wójcikiewicz et al., 2016]. Значительные уровни дифференциации между популяциями ВП и основного ареала были также ранее выявлены на основе анализа мтДНК и хпДНК [Wójcikiewicz, Wachowiak, 2016; Semerikov et al., 2020], а также аллозимов [Петрова и др., 2017].

Согласно данным спорово-пыльцевого анализа, сосна обыкновенная появилась на Кавказе в нижнем плейстоцене 0,8–1,6 (0,9) млн л. н., стабильно присутствовала в пыльцевых спектрах более поздних периодов [Shatilova et al., 2011]. Данные генетического анализа позволяют утверждать, что популяции в ВП имеют общее происхождение и долгое время были изолированы от популяций основного ареала. По результатам ABC-моделирования получена оценка времени расхождения между популяциями ВП и основного ареала в 0,55 млн л. н. Это соответствует примерным оценкам, полученным на основе анализа мтДНК [Semerikov et al., 2020], однако вдвое меньше оценки возраста дивергенции, полученной на основе анализа хпДНК с помощью ABC-моделирования [Semerikov et al., 2020]. В любом случае полученные оценки опровергают гипотезу об изоляции сосны обыкновенной в ВП в конце неогена и образовании таким образом сосны Коха (*P. kochiana* Klotzsch ex K. Koch) [Бобров, 1978], в качестве которой иногда идентифицируют сосну обыкновенную в данном регионе. Наша оценка возраста дивергенции соответствует среднему плейстоцену. Изоляция популяций ВП была наиболее вероятна в межледниковье, что связано с потеплением и увлажнением климата и распространением более теплолюбивой растительности.

Анализ nSSR указывает на значительно больший уровень межпопуляционной дифференциации в пределах ВП по сравнению с популяциями основного ареала. Два генетических кластера, выделенных с помощью STRUCTURE, имеют в ВП отчетливо обособленные области распространения (см. рис. 3). Примечательно, что данное распределение от-

части соответствует распределению гаплотипов мтДНК в этом регионе [Semerikov et al., 2020], в том числе обнаруживается дифференциация между популяциями Западного и Восточного Кавказа, а также генетическое сходство между популяциями Крыма и Малой Азии. Генетическое сходство между популяциями Крыма и Малой Азии было ранее выявлено на основе анализа ядерных [Wójkiewicz et al., 2016] и хлоропластных микросателлитов [Wójkiewicz, Wachowiak, 2016]. Ординация на основе парных F_{st} демонстрирует повышенные значения дифференциации между популяциями ВП, что согласуется с данными предыдущего исследования [Wójkiewicz et al., 2016]. Высокая дифференциация между популяциями ВП по nSSR, так же как по мтДНК и cpSSR, обусловлена сниженным генетическим потоком в пределах ВП, что объясняется особыми физико-географическими условиями данного региона [Semerikov et al., 2020]. Аналогичная картина наблюдается в сильно изолированных анклавах сосны обыкновенной в Средиземноморье. Популяции с Пиренейского полуострова, Апеннин и северо-запада Турции также демонстрируют высокую степень дифференциации по данным изменчивости мтДНК [Naydenov et al., 2007], cpSSR [Cheddadi et al., 2006; Wójkiewicz, Wachowiak, 2016] и nSSR [Belletti et al., 2012; Wójkiewicz et al., 2016].

Примечательно, что популяции Крыма и Малой Азии, имеющие общий доминирующий кластер (см. рис. 3), генетически близки друг к другу (см. рис. 4), что, с одной стороны, подтверждает гипотезу о проникновении сосны обыкновенной на Кавказ и в Крым через Малую Азию, ранее обоснованную на основе анализа мтДНК [Semerikov et al., 2020]. Но с другой стороны, учитывая значительно большую скорость мутирования nSSR по сравнению с мтДНК, исключаящую длительное пребывание одинаковых генотипов в изолированных частях ареала, следует предполагать недавний прямой путь проникновения сосны в Крым из Малой Азии, а не через Кавказ, как думалось ранее. Вероятнее всего, проникновение сосны в Крым из Малой Азии произошло значительно позднее, чем на Кавказ, и происходило по морю. Известно, что в определенные периоды, связанные с оледенениями, Черное море, бывшее в то

время озером, подвергалось сильному опреснению [Aksu, Hiscott, 2022], что, вероятно, могло способствовать гидрохорному распространению семян сосны обыкновенной.

Деление по результатам анализа STRUCTURE популяций Большого Кавказа на западную и восточную части (см. рис. 3), по-видимому, является следствием фрагментации ареала сосны обыкновенной на Кавказе, произошедшей в период, предшествующий последнему ледниковому максимуму. На это указывает полученная с помощью ABC-моделирования оценка времени дивергенции групп популяций Восточного и Западного Кавказа в 149 тыс. л. н., что примерно соответствует микулинскому межледниковью. При этом проникновение сосны с севера, с Русской равнины на Западный Кавказ, приведшее к гибридизации и образованию рекомбинантного гаплотипа мтДНК [Semerikov et al., 2020], скорее всего, имело место значительно позднее, в районе последнего ледникового максимума, в соответствии с полученной с помощью ABC-моделирования оценкой в 19,4 тыс. л. н. Возможность образования непрерывного ареала сосны обыкновенной на юге Русской равнины, в Северном Приазовье и Причерноморье в позднем плейстоцене и начале голоцена подтверждается палеоданными [Tarasov et al., 2000; Velichko et al., 2009] и результатами моделирования палеоареала (см. рис. 5, б). Палинологические данные свидетельствуют о распространении лесов с участием сосны обыкновенной в Юго-Восточном Приазовье в позднем плейстоцене в условиях похолодания и увлажнения, а островных сосновых лесов – в бореальный и суббореальный периоды голоцена [Демина, 2009]. Кроме того, палеоданные свидетельствуют о доминировании сосны обыкновенной на Западном Кавказе в последний ледниковый максимум 28–14 тыс. л. н. [Arslanov et al., 2007]. Это свидетельствует в пользу наших оценок времени проникновения сосны обыкновенной с севера на Западный Кавказ.

По данным анализа nSSR не выявлено никаких связей между популяциями Балкан и Малой Азии (см. рис. 3, 4), что согласуется как с данными предыдущих исследований [Wójkiewicz et al., 2016], так и с данными анализа мтДНК [Semerikov et al., 2020] и хпДНК [Wójkiewicz, Wachowiak, 2016]. Это говорит о длительной изоляции между изучаемыми

регионами. В то же время популяции Балкан генетически не отличаются от остальных популяций Восточной Европы ни по nSSR (см. рис. 3, 4), ни по цитоплазматическим маркерам [Semerikov et al., 2020].

Отсутствие дифференциации на большей части основного ареала по nSSR согласуется с данными предыдущих исследований по nSSR [Wójcikiewicz et al., 2016], cpSSR [Семериков и др., 2014; Wójcikiewicz, Wachowiak, 2016] и аллозимным маркерам [Санников, Петрова, 2007]. При этом данная картина контрастирует с результатами анализа мтДНК в основной части ареала [Naydenov et al., 2007; Semerikov et al., 2018], демонстрирующими наличие генетической дифференциации в районах от Западной Европы до средней Оби. Восточнее дифференциация по мтДНК отсутствует. Низкая дифференциация по nSSR связана с высокой эффективной численностью по ядерным кодоминантным маркерам, а также с высокой степенью панмиксии в популяциях сосны обыкновенной в районах с непрерывным распространением, что также выражается в сниженной дифференциации популяций в основной части ареала по cpSSR, в отличие от значительной дифференциации по мтДНК с материнским наследованием [Semerikov et al., 2018].

Некоторая дифференциация имеется в распределении кластеров IV и V в основной части ареала, один из которых преобладает в Сибири (кроме Якутии), на Урале и на севере Русской равнины (см. рис. 3). Деление на восток и запад в основной части ареала в целом согласуется с данными, полученными на основе анализа митохондриальных маркеров и хлоропластных микросателлитов [Семериков и др., 2014; Semerikov et al., 2018], и не противоречит существованию нескольких центров послеледниковой реколонизации или рефугиумов: Балканско-Карпатского, Уральского и Южно-Сибирского. Структура рефугиумов сосны обыкновенной также подтверждается с помощью экологического моделирования палеоареала для последнего ледникового максимума (см. рис. 5, б).

Данные анализа аллозимов и митохондриальной ДНК свидетельствуют, что основным плейстоценовым рефугиумом и центром расселения популяций *Pinus sylvestris* на север и северо-восток Европы был именно балканско-карпатский [Naydenov et al., 2007;

Санников и др., 2014; Semerikov et al., 2018]. Это также подтверждается палеоданными по пыльце сосны обыкновенной [Magyari et al., 2014; Brewer et al., 2017].

На основе аллозимных данных выявлена рефугиальная группа популяций *P. sylvestris* Южного Урала (Зилаир, Крыктытау, Ирмель) [Санников и др., 2014], что также находит подтверждение по данным анализа мтДНК [Semerikov et al., 2018], а также по пыльцевым палеоданным [Danukalova et al., 2020]. Область расселения из этого рефугиума на Русской равнине соответствует ее восточной и северо-восточной части, что находит доказательство как в структуре изменчивости мтДНК [Semerikov et al., 2018], так и nSSR (преобладание одинакового кластера на Урале и в Карелии, см. рис. 3).

На основе анализа cpSSR сделано предположение о существовании плейстоценовых рефугиумов на Алтае и в Северной Монголии [Семериков и др., 2014], из которых происходила колонизация Сибири. Этому не противоречат данные анализа nSSR (см. рис. 3). Существование алтайского и северомонгольского рефугиумов подтверждается данными анализа аллозимов [Санников и др., 2014] и новейшими данными палинологии [Бляхарчук, 2010; Binney et al., 2017; Cao et al., 2020]. Предыдущее исследование nSSR у сосны обыкновенной подтверждает существование рефугиума на юге Центральной Сибири [Sheller et al., 2023]. Палеоданные свидетельствуют также о существовании прибайкальского рефугиума [Бляхарчук, 2010; Brewer et al., 2017; Cao et al., 2020].

Однако связь между Балканско-Карпатским, Уральским и Южно-Сибирскими рефугиумами вплоть до Байкала не прерывалась во время последнего ледникового максимума. Это подтверждает экологическое моделирование в MAXENT (см. рис. 5, б) и доказывают палеоданные [Бляхарчук, 2010; Binney et al., 2009, 2017]. Данное обстоятельство способствовало дополнительному смешению генотипов хлоропластной [Семериков и др., 2014] и ядерной ДНК (см. рис. 3) сосны обыкновенной через потоки пыльцы, что привело к отсутствию значительной генетической дифференциации по данным маркерам, в отличие от четкой дифференциации, выявляемой по мтДНК [Semerikov et al., 2018]. Примечательно, что у *Abies sibirica* (Семериков В. Л., пер-

сональное сообщение) и *Pinus sibirica* (Шуваев Д. Н., персональное сообщение) выявляются четкие генетические паттерны распространения по nSSR из Уральских, Алтае-Саянских и Прибайкальских рефугиумов. Это вызвано дизъюнкциями палеоареалов у данных видов, ограниченными во время последнего ледникового максимума горными областями Урала и юга Сибири, что подтверждается экологическим моделированием (Шуваев Д. Н., персональное сообщение). Горные области вообще являются наиболее подходящими в качестве рефугиумов для многих видов вследствие высотного климатического градиента [Hewitt, 1996].

По результатам анализа nSSR выявлены значимые отличия популяций Якутии и Дальнего Востока от остальных популяций основного ареала, что также подтверждено результатами предыдущего исследования [Sheller et al., 2023] (см. рис. 3). Ранее генетическая обособленность популяций данного региона от остальных была обнаружена с помощью аллозимного анализа [Санников, Петрова, 2007]. Это дает основание предполагать существование в Приамурье и в районе Охотского моря еще одного ледникового рефугиума сосны обыкновенной, распространение сосны из которого происходило в северо-западном направлении. Существование данного рефугиума подтверждается результатами моделирования палеоареала (см. рис. 5, б) и палеоданными [Cao et al., 2020].

На основе данных анализа nSSR время дивергенции между популяциями Дальнего Востока и основного ареала оценено в 97,5 тыс. л. н., что соответствует рубежу между микулинским межледниковьем и последним ледниковым периодом. Моделирование палеоареала для последнего ледникового максимума (см. рис. 5, б) показывает изоляцию данного рефугиума в этот период, что объясняет существенные генетические отличия якутских и дальневосточных популяций сосны обыкновенной от сибирских. Для лучшего понимания структуры генетической изменчивости сосны обыкновенной на Дальнем Востоке требуется дополнительный анализ выборок по митохондриальным маркерам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, данные анализа nSSR, так же как и ранее хлоропластных, митохондриальных

маркеров и аллозимов, обнаруживают значительную дифференциацию между популяциями ВП и основного ареала у сосны обыкновенной и говорят о давней изоляции популяций ВП, не исключая значительно более позднего проникновения генетического материала из Русской равнины на Западный Кавказ. Подтверждается ранее выявленная по мтДНК и cpSSR дивергенция между популяциями Западного и Восточного Кавказа, разделение которых произошло, по нашим данным, во время последнего межледниковья. Есть основания предполагать прямое проникновение сосны обыкновенной из Малой Азии в Крым, минуя Кавказ.

В основной части ареала данные анализа nSSR не противоречат выявленной по результатам анализа аллозимов и мтДНК роли Балканско-Карпатского и Южно-Уральского рефугиумов в постледниковой реколонизации Русской равнины, Урала и Западной Сибири. Анализ nSSR выявил существенную дифференциацию между популяциями Дальнего Востока и остальными популяциями основной части ареала, что подтверждает существование там рефугиума во время последнего ледникового максимума.

Для более подробного исследования филогеографии сосны обыкновенной, в том числе выявления путей распространения из рефугиумов в основной части ареала, требуется изучение большего количества выборок и привлечение дополнительных генетических данных, в том числе с использованием ядерных мультигенных маркеров, таких как SNP, и митохондриальных маркеров.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории молекулярной экологии растений ИЭРиЖ УрО РАН Д. Н. Шуваеву и В. Л. Семейкову.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН Ботанический сад УрО РАН.

ЛИТЕРАТУРА

- Бляхарчук Т. А. Последледниковая динамика растительного покрова Западно-Сибирской равнины и Алтае-Саянской горной области (по данным спорово-пыльцевого анализа болотных и озерных отложений): автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.01. Томск, 2010. 43 с.
- Бобров Е. Г. Лесообразующие хвойные СССР. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1978. 189 с.

- Демина О. Н. Становление степного типа растительности на территории Приазовья // Аридные экосистемы. 2009. Т. 15, № 4 (40). С. 22–37.
- Нейштадт М. И. История лесов СССР и палеогеография СССР в голоцене. М.: Изд-во АН СССР, 1957. 404 с.
- Петрова И. В., Санников С. Н., Темботова Ф. А., Санникова Н. С., Фарзалиев В. С., Моллаева М. З., Егоров Е. В. Геноегеография популяций *Pinus sylvestris* L. Большого Кавказа и Крыма // Экология. 2017. № 6. P. 431–439 [Petrova I., Sannikov S., Tembotova F., Sannikova N., Farzaliev V., Mollaeva M., Egorov E. Genogeography of *Pinus sylvestris* L. populations in the Greater Caucasus and Crimea // Rus. J. Ecol. 2017. Vol. 48. P. 524–531].
- Санников С. Н., Петрова И. В. Феногеогеография популяций древесных растений: проблемы, методы и некоторые итоги // Хвойные бореальной зоны. 2007. Т. 24, № 2–3. С. 288–296.
- Санников С. Н., Санникова Н. С., Петрова И. В. Очерки по теории лесной популяционной биологии. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2012. 272 с.
- Санников С. Н., Петрова И. В., Егоров Е. В., Санникова Н. С. Выявление системы плейстоценовых рефугиумов *Pinus sylvestris* L. в южной маргинальной зоне ареала // Экология. 2014. № 3. P. 174–174 [Sannikov S., Petrova I., Egorov E., Sannikova N. A system of Pleistocene refugia for *Pinus sylvestris* L. in the southern marginal part of the species range // Rus. J. Ecol. 2014. Vol. 45. P. 167–173].
- 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., Semerikova S., Dymshakova O., Zatsypina K., Tarakanov V., Tikhonova I., Ekart A., Vidyakin A., Jamiyansuren S., Rogovtsev R., Kalchenko L. 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].
- Aksu A., Hiscott R. Persistent Holocene outflow from the Black Sea to the eastern Mediterranean Sea still contradicts the Noah's Flood Hypothesis: A review of 1997–2021 evidence and a regional paleoceanographic synthesis for the latest Pleistocene–Holocene // Earth-Sci. Rev. 2022. Vol. 227. P. 103960.
- Arslanov K. A., Dolukhanov P., Gei N. Climate, Black Sea levels and human settlements in Caucasus Littoral 50,000–9000 BP // Quat. International. 2007. Vol. 167. P. 121–127.
- Belletti P., Ferrazzini D., Piotti A., Monteleone I., Ducci F. Genetic variation and divergence in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) within its natural range in Italy // Eur. J. Forest Res. 2012. Vol. 131. P. 1127–1138.
- Binney H. A., Willis K. J., Edwards M. E., Bhagwat S. A., Anderson P. M., Andreev A. A., Blaauw M., Dambon F., Haesaerts P., Kienast F., Kremenetski K. V., Krivonogov S. K., Lozhkin A. V., MacDonald G. M., Novenko E. Y., Oksanen P., Sapelko T. V., Välranta M., Vazhenina L. The distribution of late-Quaternary woody taxa in northern Eurasia: evidence from a new macrofossil database // Quat. Sci. Rev. 2009. Vol. 8, N 23. P. 2445–2464.
- Binney H., Edwards M., Macias-Fauria M., Lozhkin A., Anderson P., Kaplan J. O., Andreev A., Bezrukova E., Blyakharchuk T., Jankovska V. Vegetation of Eurasia from the last glacial maximum to present: Key biogeographic patterns // Quat. Sci. Rev. 2017. Vol. 157. P. 80–97.
- Brewer S., Giesecke T., Davis B. A., Finsinger W., Wolters S., Binney H., de Beaulieu J.-L., Fyfe R., Gil-Romera G., Kühl N. Late-glacial and Holocene European pollen data // J. Maps. 2017. Vol. 13, N 2. P. 921–928.
- Cao X., Tian F., Andreev A., Anderson P. M., Lozhkin A. V., Bezrukova E., Ni J., Rudaya N., Stobbe A., Wiczorek M. A taxonomically harmonized and temporally standardized fossil pollen dataset from Siberia covering the last 40 kyr // Earth System Sci. Data. 2020. Vol. 12, N 1. P. 119–135.
- Cheddadi R., Vendramin G. G., Litt T., François L., Kagayama M., Lorentz S., Laurent J. M., de Beaulieu J. L., Sadori L., Jost A. Imprints of glacial refugia in the modern genetic diversity of *Pinus sylvestris* // Global Ecol. and Biogeogr. 2006. Vol. 15, N 3. P. 271–282.
- Cornuet J. M., Pudlo P., Veyssier J., Dehne-Garcia A., Gautier M., Leblois R., Marin J. M., Estoup A. DIYABC v2.0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data // Bioinformatics. 2014. Vol. 30. P. 1187–1189.
- Danukalova G., Kosintsev P., Yakovlev A., Yakovleva T., Osipova E., Kurmanov R., van Kolfshoten T., Izvarin E. Quaternary deposits and biostratigraphy in caves and grottoes located in the Southern Urals (Russia) // Quat. International. 2020. Vol. 546. P. 84–124.
- Dering M., Baranowska M., Beridze B., Chybicki I. J., Danelia I., Iszkulo G., Kwartskhava G., Kosiński P., Rączka G., Thomas P. A., Tomaszewski D., Walas Ł., Sękiewicz K. The evolutionary heritage and ecological uniqueness of Scots pine in the Caucasus ecoregion is at risk of climate changes // Sci. Rep. 2021. Vol. 11, N 1. P. 22845.
- Earl D. A., von Holdt B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method // Conserv. Genet. Res. 2012. Vol. 4. P. 359–361.
- 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.
- Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Res. 2010. Vol. 10, N 3. P. 564–567.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // Mol. Ecol. 2005. Vol. 14, N 8. P. 2611–2620.
- 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. P. 1300057.
- Goudet J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.4) // <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. 2005.
- Hardy O. J., Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels // Mol. Ecol. Notes. 2002. Vol. 2, N 4. P. 618–620.

- Hewitt G. M. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation // *Biol. J. Linnean Society*. 1996. Vol. 58, N 3. P. 247–276.
- Kopelman N. M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N. A., Mayrose I. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K // *Mol. Ecol. Res.* 2015. Vol. 15, N 5. P. 1179–1191.
- Magyari E. K., Kuneš P., Jakab G., Sümegi P., Pelánková B., Schäbitz F., Braun M., Chytrý M. Late Pleniglacial vegetation in eastern-central Europe: are there modern analogues in Siberia? // *Quat. Sci. Rev.* 2014. Vol. 95. P. 60–79.
- Naydenov K., Senneville S., Beaulieu J., Tremblay F., Bousquet J. Glacial vicariance in Eurasia: mitochondrial DNA evidence from Scots pine for complex heritage involving genetically distinct refugia at mid-northern latitudes and in Asia Minor // *BMC Evol. Biol.* 2007. Vol. 7, N 233. P. 1471–2148.
- Peakall R., Smouse P. E. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2012. Vol. 28, N 19. P. 2537–2539.
- Phillips S. J., Anderson R. P., Schapire R. E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions // *Ecol. Modelling*. 2006. Vol. 190, N 3–4. P. 231–259.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // *Genetics*. 2000. Vol. 155, N 2. P. 945–959.
- Provan J., Soranzo N., Wilson N. J., Goldstein D. B., Powell W. A low mutation rate for chloroplast microsatellites // *Genetics*. 1999. Vol. 153, N 2. P. 943–947.
- Shatilova I., Mehdlishvili N., Rukhadze L., Kvavadze E. The history of flora and vegetation of Georgia. Tbilisi: Universal Publ. H., 2011. 200 p.
- 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. Vol. 4, N 2. P. 231–234.
- Semerikov V. L., Semerikova S. A., Putintseva Y. A., Tarakanov V. V., Tikhonova I. V., Vidyakin A. I., Oreshkova N. V., Krutovsky K. V. Colonization history of Scots pine in Eastern Europe and North Asia based on mitochondrial DNA variation // *Tree Genet. Genomes*. 2018. Vol. 14, N 1. P. 8.
- Semerikov N. V., Petrova I. V., Sannikov S. N., Semerikova S. A., Tashev A. N., Lascoux M., Semerikov V. L. Cytoplasmic DNA variation does not support a recent contribution of *Pinus sylvestris* L. from the Caucasus to the main range // *Tree Genet. Genomes*. 2020. Vol. 16, N 4. P. 59.
- 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, N 1. P. 119.
- Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. // *Mol. Ecol.* 1998. Vol. 7, N 9. P. 1260–1261.
- Tarasov P., Volkova V., Webb III T., Guiot J., Andreev A., Bezusko L., Bezusko T., Bykova G., Dorofeyuk N., Kvavadze E. Last glacial maximum biomes reconstructed from pollen and plant macrofossil data from northern Eurasia // *J. Biogeogr.* 2000. Vol. 27, N 3. P. 609–620.
- Tóth E. G., Bede-Fazekas Á., Vendramin G. G., Bagnoli F., Höhn M. Mid-Pleistocene and Holocene demographic fluctuation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the Carpathian Mountains and the Pannonian Basin: Signs of historical expansions and contractions // *Quat. International*. 2019. Vol. 504. P. 202–213.
- Velichko A., Catto N., Kononov M. Y., Morozova T., Novenko E. Y., Panin P., Ryskov G. Y., Semenov V., Timireva S., Titov V. Progressively cooler, drier interglacials in southern Russia through the Quaternary: Evidence from the Sea of Azov region // *Quat. International*. 2009. Vol. 198, N 1–2. P. 204–219.
- Williams J. W., Grimm E. C., Blois J. L., Charles D. F., Davis E. B., Goring S. J., Graham R. W., Smith A. J., Anderson M., Arroyo-Cabrales J. The Neotoma Paleocology Database, a multiproxy, international, community-curated data resource // *Quat. Res.* 2018. Vol. 89, N 1. P. 156–177.
- Willis K. J., van Andel T. H. Trees or no trees? The environments of central and Eastern Europe during the Last Glaciation // *Quat. Sci. Rev.* 2004. Vol. 23. P. 2369–2387.
- Wójcikiewicz B., Litkowiec M., Wachowiak W. Contrasting patterns of genetic variation in core and peripheral populations of highly outcrossing and wind pollinated forest tree species // *AoB Plants*. 2016. Vol. 8.
- Wójcikiewicz B., Wachowiak W. Substructuring of Scots pine in Europe based on polymorphism at chloroplast microsatellite loci // *Flora*. 2016. Vol. 220. P. 142–149.

Demographic history of Scots pine in the Pleistocene in Northern Eurasia and the Caucasus region based on the analysis of nuclear microsatellite loci

N. V. SEMERIKOV, I. V. PETROVA

*Institute Botanical Garden UB RAS
620144, Ekaterinburg, 8 Marta str., 202a
E-mail: semerikov2014@mail.ru*

Using nine nuclear microsatellite loci (nSSR), the structure of genetic variability of Scots pine in the Black Sea-Caucasus region, Eastern Europe, the Urals, Siberia and the Russian Far East was studied and the demographic history of these population groups was investigated using ABC-analysis. A significant differentiation between the populations of the Eastern Black Sea region and the main areal was confirmed, while the time of divergence between these groups was estimated at 0.5 million BP. The differentiation of the populations of the Greater Caucasus into western and eastern populations was found, probably due to migrations of Eastern European populations to the Western Caucasus. The nSSR similarity of the populations of the Crimea and Asia Minor is shown, probably as a result of their relatively recent differentiation. The nSSR analysis revealed a significant differentiation between the populations of the Russian Far East and the rest of the populations of the northern part of the range. The divergence time between these groups of populations was estimated using ABC-analysis at 97 thousand BP, which confirms the survival of the Scots pine in the Russian Far East during the last glacial maximum.

Key words: *Pinus sylvestris* L., nSSR, genetic variability, refugia, historical demography.