

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, СТРУКТУРА
И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ВИДОВОГО КОМПЛЕКСА
Picea abies—*Picea obovata*—*Picea koraiensis* ПО ДАННЫМ
МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК

© 2024 г. А. Я. Ларионова^{1,*}, С. А. Семерикова², А. К. Экарт¹, А. Н. Кравченко^{1, **},
В. Л. Семериков², М. А. Полежаева²

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, 660036 Россия

²Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук,

Екатеринбург, 620144 Россия

*e-mail: alya-larion@yandex.ru

**e-mail: kravchenko-anna.n@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.04.2024 г.

После доработки 30.05.2024 г.

Принята к публикации 06.06.2024 г.

В статье представлены результаты сравнительного исследования генетической структуры, параметров внутривидового генетического разнообразия и пространственной дифференциации 35 популяций елей видового комплекса *P. abies*—*P. obovata*—*P. koraiensis*, расположенных в пределах областей распространения «чистых» видов и в зонах контакта их ареалов. В анализ включены популяции *P. abies* из Восточной Европы (Беларусь, Польша), популяции ели из европейской части России, Урала и Западно-Сибирской равнины, расположенные в зоне интродукции гибридизации *P. abies* и *P. obovata*, популяции *P. obovata* из различных частей обширного ареала этого вида в Сибири и в Монголии, а также популяции *P. koraiensis* с российского Дальнего Востока и северо-востока Китая. Изучение генетической изменчивости и дифференциации популяций проведено на основе анализа изменчивости трех микросателлитных локусов: Pt63718, Pt71936 и Pt26081, разработанных на основе хлоропластного генома *Pinus thunbergii* Parl. Использование указанных ДНК-маркеров позволило получить данные, свидетельствующие о достаточно высокой степени генетической дивергенции *P. koraiensis* от двух других входящих в комплекс видов елей *P. abies* и *P. obovata*. Произрастающая на Дальнем Востоке ель корейская существенно отличается от популяций этих видов по числу и составу гаплотипов, уровню генетического разнообразия и структуре популяций, что дает нам основание рассматривать ее в качестве отдельного вида.

Ключевые слова: *Picea abies*, *P. obovata*, *P. koraiensis*, cpSSR, гаплотипическое разнообразие, структура популяций, генетическая дифференциация.

DOI: 10.31857/S0016675824110035 **EDN:** WBPQUQ

Род *Picea* A. Dietr. – ель, один из важнейших родов в семействе Pinaceae по хозяйственному значению и по обилию видов. В настоящее время представители этого рода распространены циркумполярно по всем материкам Северного полушария – от заполярных районов почти до субтропической зоны. Видовое разнообразие рода *Picea* представлено примерно 40–45 видами, ареалы большинства которых находятся в Евразии и Северной Америке [1–4].

На территории России произрастают шесть видов рода *Picea*: *Picea abies* (L.) H. Karst., *P. obovata* Ledeb., *P. jezoensis* (Siebold & Zucc.) Carrière, *P. glehnii* (F. Schmidt) Mast., *P. koraiensis* Nakai и *P. orientalis* (L.) Peterm. Самый большой и почти непрерывный ареал среди них занимают ели европейская *P. abies* и сибирская *P. obovata* [2], а обширная зона интродукции гибридизации этих видов охватывает практически всю Русскую равнину до Урала и Западной Сибири [1, 2, 5]. *P. abies* распространена от Скандинавии до Урала, а также в горах

Западной Европы (Альпы, Карпаты, Балканы). В Предуралье *P. abies* постепенно замещается близким видом *P. obovata*. Ель сибирская произрастает в северо-восточной части Европейской России, практически на всей территории Сибири и на юге Дальнего Востока до побережья Охотского моря и нижнего Амура [6, 7]. В южной части Приамурья и в Приморье растет ель корейская *P. koraiensis*. Морфологическая и экологическая близость, а также наличие переходных форм вследствие возможной гибридизации [2] не позволяют установить четкой границы между *P. obovata* и *P. koraiensis* [8–11].

До настоящего времени вопрос о видовом статусе ели корейской на юге Дальнего Востока России остается открытым. Одни исследователи признают ее видовую самостоятельность [2, 6–9, 12–15], другие – рассматривают произрастающую здесь ель в качестве разновидности ели сибирской [4, 11, 16, 17]. Изучение полиморфизма морфологических признаков в популяциях ели дальневосточного региона [18], на основании которых она определялась как ель корейская, выявило значительное сходство этих популяций с популяциями ели сибирской из центральных районов ареала вида. Кроме того, было установлено, что популяции *P. koraiensis* на исследованной территории не обнаруживают характерной для самостоятельных видов определенной географической приуроченности. На основании полученных результатов авторами было высказано предположение об отсутствии *P. koraiensis* на российском Дальнем Востоке.

Кариологический анализ *P. koraiensis* и *P. obovata* выявил сходство этих видов по основным морфологическим типам хромосом. Существенные различия между кариотипами наблюдались лишь по длине хромосом, числу, частоте встречаемости и особенностям локализации нуклеолярных районов [19]. По мнению авторов, встречающиеся у *P. koraiensis* спутничные хромосомы могут быть дополнительным критерием для разграничения спорных в таксономическом плане видов *P. koraiensis* и *P. obovata*.

По данным В.В. Потенко [20], произрастающие в исследованном регионе Дальнего Востока *P. obovata* и *P. koraiensis* обнаруживают достоверно значимые различия в генетической структуре. На дендрограмме, построенной с помощью парно-группового метода кластерного анализа (UPGMA) на основе генетических дистанций, рассчитанных по 20 изоферментным локусам, популяции *P. obovata* и *P. koraiensis* разделяются на две группы с высоким уровнем бутстреп-поддержки. Степень генетической дифференциации популяций этих видов сопоставима с уровнем, выявляемым изоферментным методом у *P. abies* и *P. obovata*, а также у других близкородственных видов хвойных.

В естественных условиях ель корейская также растет в Северной Корее и в северо-восточных районах Китая, где ее видовой статус не вызывает сомнений у научного сообщества [21, 22]. С помощью маркеров mtДНК и хпДНК проведены исследования пяти близкородственных видов елей комплекса *P. asperata* Mast.–*P. crassifolia* Ком.–*P. meyeri* Rehder et E.H.Wilson–*P. koraiensis*–*P. obovata* [23]. Эти виды морфологически сходны, но имеют отдельные ареалы. Известно, что у хвойных вследствие разных способов передачи генетической информации (по материнской или по отцовской линии) митохондриальная и хлоропластная ДНК характеризуются разными скоростями генетического потока. Хлоропластная ДНК, передаваемая через пыльцу, имеет более высокие скорости генетического потока по сравнению с митохондриальной ДНК, передаваемой через семена. В ходе сравнительного исследования было обнаружено, что использованные авторами маркеры mtДНК выявляют главным образом географическую изменчивость, а маркеры хпДНК разделяют популяции в зависимости от их видовой принадлежности. Идентифицировано четыре группы популяций разных видов, дифференцированных друг от друга. Наиболее значительные различия по маркерам хпДНК наблюдались между *P. obovata* и другими видами комплекса елей, включая группу из двух видов, в которую входит *P. koraiensis*. Полученные данные свидетельствуют о том, что для разграничения видов елей лучше всего подходят маркеры хпДНК с высокой скоростью потока генов.

Исследование генетического разнообразия и популяционной структуры *P. koraiensis* на основе анализа однонуклеотидного полиморфизма (SNP), проведенное в различных по географическому положению и климатическим условиям популяциях Китая [24], выявило достаточно высокий уровень внутривидовой дифференциации популяций этого вида. Основными причинами существенных различий между изученными в регионе популяциями *P. koraiensis*, по мнению авторов этого исследования, являются их географическая изоляция, климатическая гетерогенность и интровергессия генов. Установлено также, что среди факторов, способствующих дифференциации популяций *P. koraiensis* из различных мест обитания, важнейшими являются температура и осадки.

Гораздо больше публикаций посвящено результатам исследования ключевых в Евразии видов *P. abies* и *P. obovata*. Достаточно подробно освещена в литературе изменчивость морфологических признаков этих видов в разных частях их ареалов [1, 5, 25, 26 и др.]. Большое внимание при этом уделяется обсуждению их таксономического статуса.

К настоящему времени на основании анализа изменчивости генетических маркеров были получены данные о разнообразии, структуре и

дифференциации популяций *P. abies* [27–43 и др.] и *P. obovata* [28, 35–40, 43–52 и др.] в различных частях ареалов этих видов. Особое внимание уделялось изучению генетической изменчивости и структуры популяций в зоне интрагрессивной гибридизации [28, 35, 38, 40, 43], в том числе на северо-западе России [53–56].

Так, при исследовании аллозимной изменчивости 26 локусов в популяциях комплекса *P. abies*–*P. obovata* [28] выявлено значительное генетическое сходство популяций этих видов. Не было обнаружено никаких фиксированных различий в аллельных частотах между ними, а также видоспецифичных диагностических локусов. На основании этого авторы предложили рассматривать *P. abies* и *P. obovata* в качестве двух подвидов или географических рас одного вида.

В дальнейших работах при использовании других молекулярных маркеров [36–38 и др.] были получены данные, указывающие на то, что *P. abies* и *P. obovata* – два разных вида, значительно дифференцированных друг от друга.

Наиболее четкое разделение видов наблюдалось при использовании маркеров мтДНК, в частности *nad1* (инtron 2), наследуемого по материнской линии. По составу гаплотипов этого фрагмента в комплексе *P. abies*–*P. obovata* выделяются три группы популяций: южноевропейская, североевропейская и сибирская [32, 37–39]. Установлено, что митохондриальные гаплотипы *P. abies* в северных популяциях группируются вместе с гаплотипами *P. obovata* и отличаются от гаплотипов *P. abies* в южных популяциях. Уровень генетической дифференциации между европейскими и сибирскими популяциями по локусу *nad1*, по данным, приведенным в публикациях, был очень высоким: $F_{ST} = 0.650$ [39] и $F_{ST} = 0.685$ [35]. Исследование пространственного распределения гаплотипов мтДНК и хпДНК показало, что граница, разделяющая виды, располагается вдоль р. Оби от устья на севере до водораздела Оби и Иртыша на юге [39].

Распределение хлоропластных гаплотипов на ареале видов подтверждает интрагрессивную гибридизацию между ними. Установлен факт интрагрессии *P. obovata* в северные популяции *P. abies* [32, 33, 35, 40], а общее распределение митохондриальной и ядерной изменчивости указывает на интрагрессию ядерной ДНК *P. abies* в южные популяции *P. obovata* [38].

В результате процессов интрагрессивной гибридизации *P. abies* и *P. obovata* на территории Восточно-Европейской равнины сформировалась большая группа популяций гибридного происхождения [5, 26, 53, 54, 56, 57]. При анализе изменчивости ядерных и хлоропластных SNP в 55 популяциях *P. abies* и *P. obovata* от Западной Европы до р. Енисей установлено, что гибридная зона простирается

от Карпат и Фенноскандии на западе до р. Оби на востоке [43]. Подтверждены полученные ранее другими исследователями данные об интрагрессии *P. obovata* в северные популяции *P. abies*, а *P. abies* в южные популяции *P. obovata*. Проведен совместный демографический анализ, подтверждающий множественные контакты видов в течение ледниковых циклов.

Недавние филогенетические исследования различных видов рода *Picea*, основанные на сравнительном транскриптомном анализе [58], также показали тесную связь между *P. abies* и *P. obovata*. Два этих вида входят в общую кладу с другими видами елей Северной Азии (*P. koraiensis*, *P. meyeri*, *P. asperata*, *P. crassifolia*, *P. retroflexa* Mast.) и Японского архипелага (*P. glehnii*, *P. koyamiae* Shiras.), но дифференцируются от них с образованием отдельного кластера.

Следует однако отметить, что, несмотря на большое число работ, посвященных изучению *P. abies*, *P. obovata*, *P. koraiensis*, по морфологическим признакам и при использовании различных маркеров ядерного и цитоплазматических геномов, многие вопросы, касающиеся пространственно-го распределения генетической изменчивости на ареалах этих видов, структуры и дифференциации популяций в предполагаемых зонах интрагрессии видов, филогенетических взаимоотношений между видами, требуют дополнительных, более детальных исследований. Остается открытым вследствие слабой изученности и вопрос о видовом статусе ели корейской на российском Дальнем Востоке. Для определения структуры произрастающей в этом регионе ели и оценки степени ее генетического сходства со структурой популяций ели сибирской необходимо привлечь для исследования двух этих видов ДНК-маркеры, которые широко и успешно используются для изучения генетического разнообразия, структуры, дифференциации и филогении видов хвойных, в том числе видов рода *Picea*.

В задачи настоящей работы входило проведение сравнительного генетического исследования видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis* с помощью маркеров хпДНК. Передаваемая через пыльцу хпДНК имеет более высокие скорости генного потока, чем мтДНК, распространяемая семенами, и лучше всего подходит для выявления генетических различий между видами. В работе нами использованы универсальные для видов сем. *Pinaceae* хлоропластные микросателлитные локусы (cpSSR) [59], успешно применяющиеся ранее для исследования генетической структуры елей [29, 41, 49, 60] и других хвойных [61–63]. Сравнительно высокая изменчивость микросателлитов хпДНК, а также характерное для цитоплазматических геномов отсутствие рекомбинации и унипарентальное наследование, обусловливающее двукратное снижение эффективного размера популяции,

обеспечивают большую чувствительность cpSSR в отношении сокращений численности популяций и изоляции [63]. В настоящее время хлоропластные микросателлиты являются одними из наиболее информативных маркеров для изучения популяционной и филогеографической структуры видов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены четыре группы популяций видового комплекса *P. abies*—*P. obovata*—*P. koraiensis*: популяции *P. abies* из Восточной Европы (Беларусь, Польша), популяции ели из европейской части России, Урала и Западно-Сибирской равнины, расположенные в зоне предполагаемой интрагрессивной гибридизации *P. abies* и *P. obovata*, популяции *P. obovata* из различных частей обширного ареала этого вида в Сибири и в Монголии, а также популяции *P. koraiensis*, естественно произрастающей в Приморском крае и Амурской области России, а также на северо-востоке Китая. Изучение генетической структуры, внутри- и межвидовой дифференциации популяций проводили на основе анализа изменчивости трех микросателлитных локусов хлДНК: Pt63718, Pt26081 и Pt71936, разработанных на основе хлоропластного генома *Pinus thunbergii* Parl. [59]. В качестве материала для исследований использовали образцы хвои и зародыши семян. Всего было проанализировано 35 популяций елей. Их местоположение, географические координаты и параметры изменчивости приведены на рис. 1 и в табл. 1.

Выделение геномной ДНК проводили методом СТАВ [66] из высущенной в силикагеле хвои и из зародышей семян. ДНК каждого фрагмента амплифицировали в 10 мкл смеси, содержащей 1 × ПЦР буфер (75 мМ Трис-НCl pH 8.8, 20 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1% Твин 20), 2.5 мМ MgCl₂, по 200 мКМ каждого dNTP, по 0.2 мКМ прямого и обратного праймера, 0.5 ед. полимеразы Taq (производство MBI Fermentas или Сибэнзим) и 10 нг геномной ДНК. Температурный профиль соответствовал приведенному в работе [59]. Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле с последующим окрашиванием нитратом серебра. Вариант размера (число микросателлитных повторов) рассматривали как аллель данного локуса, а комбинацию аллелей трех cpSSR-локусов у индивидуума — как гаплотип.

Популяционно-генетический анализ проводили на основании общепринятых в популяционной генетике статистических параметров, описывающих уровень изменчивости и дифференциации. В каждой популяции, используя GenAIEx 6.502 [67], были определены показатели генетической изменчивости: число выявленных гаплотипов (N_h), гаплотипическое разнообразие (h), несмешенное

гаплотипическое разнообразие (ih), проведен анализ иерархической структуры изменчивости AMOVA (внутри популяций, между популяциями внутри видов, между видами) [68], вычислены индексы фиксации Φ_{PT} между популяциями. Индекс фиксации Φ_{PT} , так же как и наиболее часто используемый в популяционных исследованиях индекс фиксации F_{ST} , отражает степень генетической дифференциации между популяциями, однако в отличие от последнего не зависит от уровня внутрипопуляционной изменчивости [69]. Статистическую значимость индексов фиксации оценивали с помощью 999 пермутаций. Для выявления пространственного распределения генетической изменчивости был проведен Principal Coordinates Analysis (PCoA) матрицы парных межпопуляционных значений Φ_{PT} , рассчитанных по частотам аллелей cpSSR-локусов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего при анализе 920 индивидуумов из 35 популяций елей в трех хлоропластных локусах идентифицировано 20 аллелей. На рис. 2 представлена диаграмма встречаемости аллелей каждого из изученных локусов в четырех группах популяций исследованного видового комплекса.

Из семи аллелей локуса Pt63718 лишь три (5, 6 и 7) являются общими. Наиболее высокую частоту встречаемости во всех изученных группах имеет аллель 6. Аллели 1, 3 и 4 относятся к категории редких. В локусе Pt26081 из восьми выявленных аллелей общим и наиболее распространенным является аллель 6. Аллели 1, 4 обнаружены только в популяциях *P. obovata*, а также в нескольких популяциях из зоны контакта ареалов этого вида с *P. abies*. Три редких аллеля (3, 8 и 9) встретились у отдельных индивидуумов в 1-2 популяциях *P. obovata* и *P. abies* × *P. obovata*. В локусе Pt71936 общим для трех исследованных видов елей является лишь аллель 2. Аллель 3 достаточно широко представлен в популяциях *P. obovata* и *P. abies*, но отсутствует у *P. koraiensis*. В изученных популяциях этого вида преобладает аллель 1, частота которого варьирует от 0.900 до 1. У *P. obovata* аллель 1 также выявляется в некоторых популяциях, но с очень низкой частотой (менее 10%).

Общее число аллелей, обнаруженных в трех cpSSR-локусах, существенно варьирует в изученных популяциях ели. Самый низкий уровень аллельного разнообразия наблюдается в популяциях *P. koraiensis* (4–9 аллелей). В остальных проанализированных популяциях общее число выявленных аллелей колеблется в пределах от 8 до 15.

Комбинацию аллелей трех cpSSR-локусов, проанализированных у индивидуума, рассматривали как гаплотип. Всего при генотипировании 920 экз. ели в 35 популяциях было идентифицировано

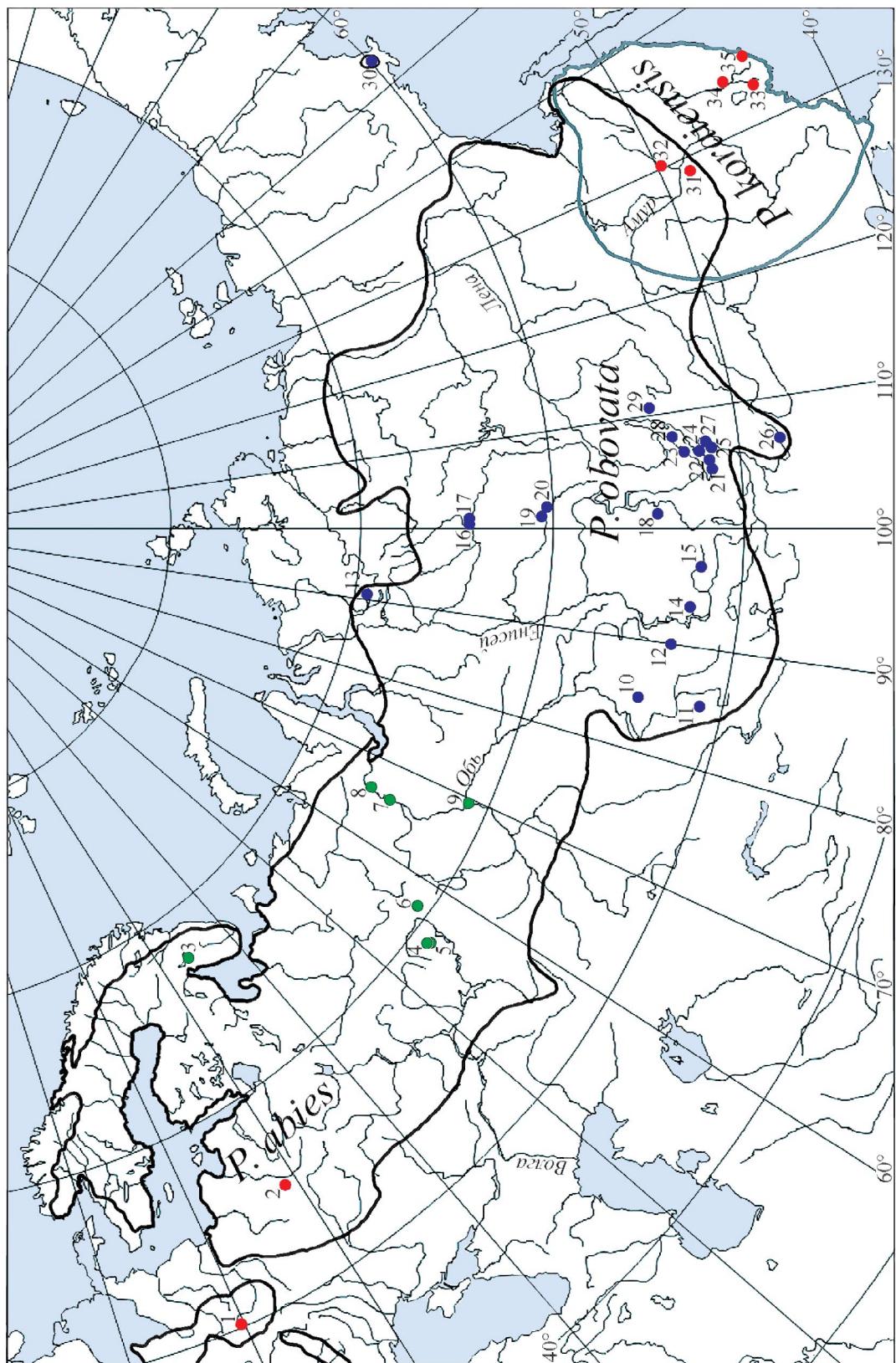


Рис. 1. Географическое расположение изученных популяций видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis*. Черной линией обозначен ареал ели европейской [9] и ели сибирской [6], серой – ареал ели корейской [64]. Цифрами обозначены номера популяционных выборок из табл. 1.

Таблица 1. Местоположение и параметры изменчивости включенных в исследование популяций ели

№	Популяции	Местоположение	Координаты с.ш. / в.д.	n	N _h	h	u _h
<i>Picea abies</i>							
1	Карпаты	Польша, Бабья гора (1364 м)	49°35' /19°33'	39	13	0.810	0.831
2	Домжерицы	Беларусь, Березинский 3-к	54°44' /28°19'	22	11	0.851	0.892
Среднее							
Зона контакта ареалов <i>Picea abies</i> и <i>Picea obovata</i>							
3	Хибины	Мурманская обл.	67°39' /33°38'	21	8	0.844	0.886
4	Юрюзань	Челябинская обл., р. Юрзань (487 м)	54°41' /58°48'	23	12	0.881	0.921
5	Иремель	Башкортостан, г. Иремель (1340 м)	54°33' /58°52'	25	10	0.662	0.690
6	Екатеринбург	Свердловская обл.	56°47' /60°48'	22	10	0.855	0.896
7	Казым Мыс	Ханты-Мансийский АО, р. Обь	64°40' /65°37'	19	11	0.859	0.906
8	Пигляр	Ямало-Ненецкий АО, р. Обь	65°50' /65°55'	24	10	0.823	0.859
9	Ханты-Мансийск	Ханты-Мансийский АО, р. Обь	61°02' /69°20'	20	10	0.820	0.863
Среднее							
<i>Picea obovata</i>							
10	Елбань	Новосибирская обл., Маслянинский р-н	54°18' /84°37'	29	10	0.842	0.872
11	Ильинка	Алтай, Шебалинский р-н	51°22' /85°10'	30	7	0.758	0.784
12	Майский	Хакасия, Усть-Абаканский р-н	53°36' /90°00'	19	10	0.881	0.930
13	Плато Путорана	Красноярский край, Таймырский Долгано-Ненецкий р-н	69°24' /90°42'	21	9	0.825	0.867
14	Ергаки	Красноярский край, Ермаковский р-н	52°47' /93°23'	29	11	0.842	0.872
15	Азас	Тыва, Тоджинский р-н, з-к «Азас»	52°15' /96°20'	29	11	0.790	0.818
16	Кочечум	Красноярский край, Эвенкийский р-н	64°19' /100°14'	30	7	0.718	0.743
17	Тура	Красноярский край, Эвенкийский р-н	64°18' /100°25'	29	10	0.809	0.837
18	Тулунка	Иркутская обл., Куйтунский р-н	54°27' /101°12'	29	16	0.892	0.924

Таблица 1. Окончание

№	Популяции	Местоположение	Координаты с.ш. / в.д.	n	N _h	h	uh
19	Тунгусский з-к	Красноярский край, Эвенкийский р-н	60°37' / 101°39'	29	10	0.759	0.786
20	Ванавара	Красноярский край, Эвенкийский р-н	60°21' / 102°16'	30	14	0.904	0.936
21	Выдрино	Бурятия, Кабанский р-н	51°26' / 104°43'	58	17	0.856	0.871
22	Хамар-Дабан	Бурятия, уроч. Бушелай	51°32' / 105°52'	30	8	0.724	0.749
23	Косая Степь	Иркутская обл., Ольхонский р-н	52°51' / 106°04'	29	10	0.835	0.865
24	Кабанск	Бурятия, Кабанский р-н	51°59' / 106°32'	25	11	0.851	0.887
25	Убукун	Бурятия, Селенгинский р-н	51°28' / 106°43'	30	12	0.784	0.811
26	Богд-Уул	Монголия, з-к «Богд-Уул»	47°48' / 106°51'	30	9	0.760	0.786
27	Красноярово	Бурятия, Иволгинский р-н	51°51' / 107°16'	29	12	0.837	0.867
28	Ольхон	Иркутская обл., о. Ольхон	53°15' / 107°43'	27	9	0.842	0.875
29	Баргузинский з-к	Бурятия, р. Баргузин	54°35' / 110°47'	29	9	0.787	0.815
30	Магадан	Магаданская обл., Магаданский з-к	59°39' / 153°04'	27	6	0.529	0.550
	Среднее			29.4	10.4	0.801	0.831
			<i>Picea koraiensis</i>				
31	Малый Хинган	Китай, Привинция Хэйлунцзян	48° / 129°	16	2	0.117	0.125
32	Бурейская	Амурская обл., Бурейский р-н, р. Талая	49°47' / 130°14'	30	7	0.491	0.508
33	Анучино	Приморский край, Анучинский р-н	43°59' / 133°07'	13	3	0.272	0.295
34	Малиново	Приморский край, Дальнереченский р-н	45°29' / 134°18'	14	2	0.133	0.143
35	Ольга	Приморский край, Ольгинский р-н	43°44' / 135°17'	14	4	0.367	0.396
	Среднее			17.4	3.6	0.276	0.293
	Среднее для 35 популяций (SE)			26.3 (1.4)	9.5 (0.6)	0.732 (0.035)	0.762 (0.036)

Примечание. n – размер выборки; N_h – число гаплотипов; h – гаплотипическое разнообразие; uh – несмешенное гаплотипическое разнообразие [65]; з-к – заповедник.

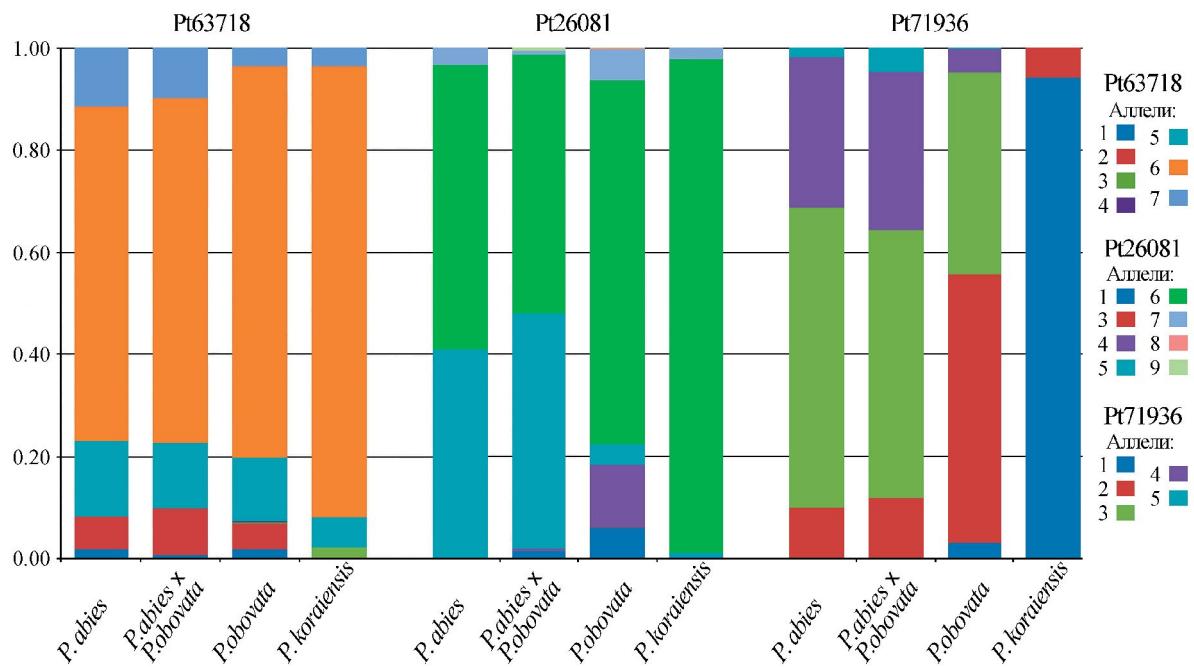


Рис. 2. Частоты аллелей трех cpSSR-локусов в четырех группах популяций видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis*.

57 гаплотипов. В отдельных популяциях число выявленных гаплотипов варьировало от 2 до 17 (см. табл. 1). Распределение гаплотипов неравномерное: два гаплотипа 6/6/3 (номера аллелей в локусах Pt63718/Pt26081/Pt71936) и 6/6/2 встречались в изученных популяциях ели чаще других. Гаплотип 6/6/3 отсутствовал лишь в популяциях *P. koraiensis*, а гаплотип 6/6/2 – в популяции *P. abies* (Домжерицы) и в популяциях Хибины, Екатеринбург, Юрюзань, Иремель, Ханты-Мансийск из зоны контакта *P. abies* и *P. obovata*. Самая высокая частота встречаемости гаплотипа 6/6/3 наблюдалась в популяции *P. obovata* из Магаданского заповедника (66.7%), в остальных изученных популяциях *P. abies* и *P. obovata* его частота варьировала от 4.5% до 56%, составляя в среднем 24.7%. Гаплотип 6/6/2, максимально представленный в популяции ели сибирской Хамар-Дабан (43.3%), обнаруживается в других изученных популяциях ели этого вида с более низкой частотой, составляющей в среднем 26.4%. У *P. abies*, *P. koraiensis* и в зоне контакта ареалов *P. abies* и *P. obovata* гаплотип 6/6/2 также выявляется в ряде популяций, но его частота в этих популяциях не превышает 10%. Остальные гаплотипы, из обнаруженных у *P. obovata*, встречаются в популяциях значительно реже (2/6/2, 5/1/3, 5/6/2, 6/4/2, 6/7/2) или относятся к категориям редких и уникальных. В популяциях *P. abies*, кроме гаплотипа 6/6/3, выявляются и другие гаплотипы, частоты встречаемости которых варьируют в пределах от 2.6 до 27%. В зоне контакта ареалов видов обнаружены

как редкие, так и наиболее распространенные (5/5/2, 6/5/3, 6/5/4, 6/6/2, 6/6/3, 6/6/4) у *P. obovata* и *P. abies* гаплотипы.

Популяции *P. koraiensis* существенно отличаются по составу гаплотипов от популяций двух других видов ели. В популяциях этого вида с достаточно высокой частотой (0.700–0.938) преобладает гаплотип 6/6/1. Кроме того, в некоторых популяциях обнаружены редкие гаплотипы 3/6/2, 5/6/1, 6/5/1, 6/6/2, 6/7/1, 7/6/1. Следует отметить, что бурейскую популяцию ели, включенную нами в группу *P. koraiensis*, ранее мы рассматривали как популяцию *P. obovata* [52]. Однако в результате предварительного анализа изменчивости cpSSR-локусов было установлено, что она значительно отличается по набору гаплотипов от популяций этого вида. Поэтому сочли целесообразным включить ее в группу популяций *P. koraiensis*, с которыми она имеет большее сходство по генетической структуре. Еще А.Я. Орлов [70] отмечал, что ель сибирская, произрастающая в бассейне Буреи, по своим морфологическим и экологическим признакам отличается от типичной ели сибирской и по ряду параметров сходна с елью корейской.

Из представленных в табл. 1 данных видно, что число (N_h) и несмешенное разнообразие (uh) гаплотипов, обнаруженных в исследованных популяциях трех видов елей, варьируют в достаточно широких пределах: от 2 до 17 и от 0.125 до 0.936, соответственно. Самые низкие параметры изменчивости наблюдаются в популяциях *P. koraiensis*.

Среднее значение ih составило всего 0.293. У *P. abies* и *P. obovata*, и в зоне контакта их ареалов средний уровень гаплотипического разнообразия почти в 3 раза выше, чем у *P. koraiensis*: 0.862, 0.831 и 0.860 соответственно. Среди изученных популяций из зоны контакта ареалов *P. abies* и *P. obovata* самое низкое несмешенное гаплотипическое разнообразие наблюдалось в высокогорной популяции Иремель (0.690), самое высокое – в популяции Юрюзань (0.921). У *P. obovata* минимальное значение показателя ih установлено в популяции Магадан (0.550), которая представляет собой крайнее северо-восточное небольшое по площади изолированное местонахождение ели сибирской, оторванное на значительное расстояние от основного ареала вида [71]. Низкие параметры cpSSR-изменчивости в этой популяции, вероятнее всего, являются результатом сокращения численности и длительной изоляции популяции в прошлом («bottleneck»), что подтверждает высокая частота (66.7%) одного из шести обнаруженных в популяции гаплотипов. Максимальное значение показателя ih отмечено в северной популяции Ванавара из Эвенкии (0.936). В среднем для 35 изученных популяций елей значения показателей N_h и ih равны соответственно 9.5 и 0.762.

AMOVA показал, что 17.1% общего генетического разнообразия ($\Phi_{RT} = 0.171, p = 0.001$), выявленного при исследовании четырех групп популяций видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis*, распределяются между группами популяций, 1.5% ($\Phi_{PR} = 0.017, p = 0.001$) – между популяциями внутри групп, а остальные 81.5% изменчивости реализуются внутри популяций ($\Phi_{PT} = 0.185, p = 0.001$) (табл. 2).

Достаточно высокая доля межгрупповой изменчивости, во много раз превышающая долю изменчивости среди популяций внутри групп, свидетельствует о значительной генетической дифференциации елей, входящих в исследуемый видовой комплекс. Для визуализации генетических различий между изученными видами на основе матрицы

парных значений индексов Φ_{PT} , вычисленных по частотам аллелей трех проанализированных локусов, был выполнен РСоА (рис. 3).

На рис. 3, *a* представлены результаты ординации 35 популяций елей на плоскости двух главных координат. Исследованные популяции образуют несколько пространственно разобщенных групп. Одна из групп, самая многочисленная, представлена популяциями *P. obovata*. Лишь популяция *P. obovata* из Магаданской области располагается на некотором удалении от группы популяций этого вида, что свидетельствует о существенном отличии гаплотипического состава магаданской популяции от остальных включенных в анализ популяций ели сибирской. Особенность данной популяции заключается в том, что в ней преобладает с достаточностью высокой частотой встречаемости (66.7%) гаплотип 6/6/3, который в других популяциях этого вида обнаруживается с более низкой частотой, составляющей в среднем 21.7%. Ранее при исследовании генетического разнообразия и дифференциации популяций ели сибирской по ядерным микросателлитным локусам также было показано, что магаданская популяция максимально дифференцируется от остальных изученных популяциях ели сибирской и характеризуется самым низким уровнем генетического разнообразия [48].

Вторая группа, находящаяся на некотором удалении от группы популяций *P. obovata*, включает в себя популяции *P. abies* и популяции ели из зоны контакта ареалов *P. abies* и *P. obovata* (см. рис. 3, *a*). Эта группа разделена на две слабо дифференцированные друг от друга подгруппы (см. рис. 3, *b*), одна из которых представлена нижнеобскими популяциями ели (Казым Мыс, Питляр, Ханты-Мансийск) и высокогорной популяцией *P. abies* из Карпат, а другая объединяет две уральские популяции (Юрюзань, Екатеринбург), популяцию Хибины из Мурманской области и популяцию *P. abies* Домжерицы. Популяция Иремель из высокогорных мест обитания на Урале отделена пространственно от остальных изученных популяций ели из зоны

Таблица 2. Анализ молекулярной изменчивости (AMOVA) по гаплотипам хпДНК в 35 популяциях видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis*

Уровень изменчивости	<i>d.f.</i>	Сумма квадратов отклонений	Компоненты изменчивости	Доля изменчивости, %	<i>p</i>
Между группами	3	40.414	0.083	17.1	0.001
Между популяциями внутри групп	31	17.984	0.007	1.5	0.001
Внутри популяций	885	349.551	0.395	81.5	0.001
Всего	919	407.945	0.485	100	

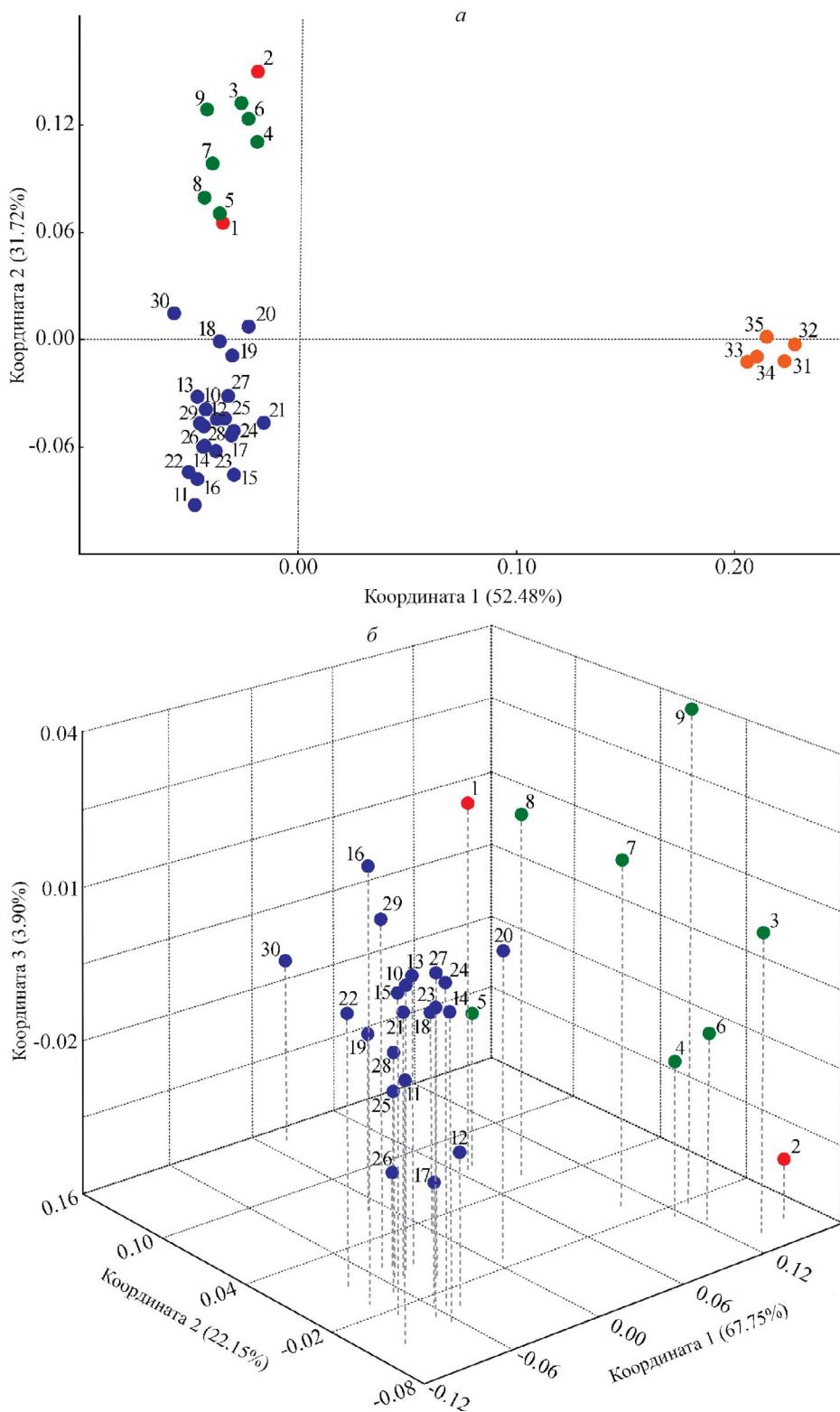


Рис. 3. Ординация изученных популяций елей на плоскости главных координат по данным матрицы парных значений Φ_{PT} , вычисленных по частотам аллелей трех cpSSR-локусов: *а* – ординация 35 популяций видового комплекса *P. abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis*; *б* – ординация популяций *P. obovata*, *P. abies* и популяций из зоны контакта ареалов этих видов. Нумерация популяций соответствует табл. 1. Синим обозначены популяции *P. obovata*, красным – *P. abies*, зеленым – популяции из зоны контакта ареалов *P. obovata* и *P. abies*, оранжевым – *P. koraiensis*.

контакта ареалов видов и имеет более низкий по сравнению с ними уровень гаплотипического разнообразия. В недавней работе, посвященной изучению популяционной структуры и совместной демографической истории *P. abies* и *P. obovata* на основе анализа изменчивости ядерных и хлоропластных SNP [43], также были включены особи ели с горы Иремель. Показано, что эта высокогорная популяция характеризуется низким нуклеотидным разнообразием, а ее особи группируются отдельно от близлежащих низкогорных популяций, образуя отдельный кластер.

Отдельную группу на плоскости двух главных координат образуют популяции *P. koraiensis*, пространственное расположение которых указывает на достаточно высокую степень их дивергенции от групп популяций европейской и сибирской елей (см. рис. 3, а).

Полученные на основании анализа изменчивости трех микросателлитных локусов хпДНК результаты свидетельствуют о существенных различиях между исследованными группами популяций видового комплекса *P. abies*—*P. obovata*—*P. koraiensis* по составу и числу выявленных гаплотипов, уровню генетического разнообразия и структуре популяций. Наиболее значительная дифференциация по этим показателям наблюдается между популяциями из зоны контакта ареалов *P. abies* и *P. obovata*, популяциями *P. abies* и *P. obovata* с одной стороны и популяциями *P. koraiensis* с другой стороны ($\Phi_{RT} = 0.369$, $\Phi_{RT} = 0.403$ и $\Phi_{RT} = 0.336$ соответственно). Степень дифференциации между популяциями двух близких видов *P. abies* и *P. obovata* оказалась на порядок ниже ($\Phi_{RT} = 0.043$). Недавние филогенетические исследования различных видов рода *Picea*, основанные на сравнительном транскриптомном анализе [58], также показали, что *P. abies* и *P. obovata* генетически гораздо ближе друг к другу, чем к *P. koraiensis*.

В ходе проведенного нами исследования установлено, что самый высокий уровень генетического разнообразия среди четырех включенных в анализ групп популяций наблюдается в популяциях ели европейской и популяциях, расположенных в зоне контакта ареалов *P. abies* и *P. obovata* (см. табл. 1). Выявление в этой зоне гаплотипов, характерных для ели сибирской, и гаплотипов, встречающихся только у ели европейской, в очередной раз подтверждает существование широкой зоны интрагрессивной гибридизации между этими видами. При сравнении входящих в комплекс видов обнаружено также заметное снижение уровня генетического разнообразия в восточном направлении. У *P. abies* среднепопуляционное значение показателя *ih* равняется 0.862, у *P. obovata* — 0.831, а у *P. koraiensis* — 0.293. Более низкий уровень генетического разнообразия у ели сибирской по сравнению с елью европейской обнаружен также

при сравнительном анализе популяций *P. abies* и *P. obovata* с помощью матерински наследуемого митохондриального фрагмента *nad1* (инtron 2) и наследуемого по отцовской линии хлоропластного региона *trnT*—*trnL* [35–37, 39].

Полученные в ходе исследования данные о значительной генетической дивергенции ели, произрастающей на российском Дальнем Востоке, от двух других видов комплекса *P. abies*—*P. obovata*—*P. koraiensis*, в том числе от ели сибирской, подтверждают ее статус в качестве отдельного вида *P. koraiensis*. Следует, однако, отметить, что ель из Амурской области, изученная нами ранее по митохондриальному локусу *mh44* [52], обнаруживает сходство с другими популяциями ели сибирской, тогда как по гаплотипическому составу исследованных нами хлоропластных микросателлитов эта популяция более близка к изученным популяциям ели корейской. В ней преобладает тот же гаплотип, что и в остальных популяциях этого вида. Расхождение между данными, полученными на основе анализа маркеров цитоплазматического генома, различающихся типом наследования, подтверждает наличие зоны интрагрессивной гибридизации между елью сибирской и елью корейской, существование которой впервые предположил Е.Г. Бобров [2]. В связи с этим необходимы дополнительные исследования с привлечением большего числа популяционных выборок как ели корейской, так и ели сибирской, особенно с малоизученного ранее обширного региона к востоку от оз. Байкал. Более детальные исследования популяций этих видов на Дальнем Востоке России позволят получить данные о границах ареалов «чистых» видов *P. obovata* и *P. koraiensis*, а также зоны их межвидовой гибридизации.

Таким образом, полученные при сравнительном исследовании видового комплекса *P. abies*—*P. obovata*—*P. koraiensis* результаты свидетельствуют об эффективности использования микросателлитных локусов хпДНК с высокой скоростью потока генов не только для определения уровня генетического разнообразия видов, выявления степени их дифференциации, но и для установления видового статуса спорных таксонов.

Авторы выражают благодарность Л.В. Кривобокову, И.В. Тихоновой, К.Г. Хомутовой, С. Жамьянсурену, В.Н. Усову, С.Н. Горошкевичу, О.А. Мочаловой, Е.А. Андриановой, Е.В. Волкову и Е.Г. Филиппову за предоставленные образцы ели.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИЛ СО РАН, проект № FWES-2024-0028 и Государственного задания ИЭРиЖ УрО РАН, № 122021000090-5.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объектов людей и животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Правдин Л. Ф.* Ель европейская и ель сибирская в СССР. М.: Наука, 1975. 176 с.
2. *Бобров Е. Г.* Лесообразующие хвойные СССР. Л.: Наука, 1978. 188 с.
3. *Крюссман Г.* Хвойные породы. М.: Лесн. пром-сть, 1986. 256 с.
4. *Коропачинский И. Ю., Встовская Т. Н.* Древесные растения Азиатской России. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. 707 с.
5. *Попов П. П.* Ель европейская и сибирская: структура, интерградация и дифференциация популяционных систем. Новосибирск: Наука, 2005. 233 с.
6. *Ареалы деревьев и кустарников СССР: в 3-х т. / сост. С. Я. Соколов, О. А. Связева, В. А. Кубли и др. Л.: Наука, 1977. Т. 1. 164 с.*
7. *Недолужко В. А.* Конспект дендрофлоры российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнавука, 1995. 208 с.
8. *Воробьев Д. П.* Дикорастущие деревья и кустарники Дальнего Востока. Л., 1968. 278 с.
9. *Schmidt-Vogt H.* Die Fichte. Hamburg; Berlin: Paul Parey, 1977. Bd. 1. 647 s.
10. *Ворошилов В. Н.* Определитель растений советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1982. 612 с.
11. *Коропачинский И. Ю.* Сосновые – Pinaceae Lindl. // Сосудистые растения Дальнего Востока. Л.: Наука, 1989. С. 9–20.
12. *Liu Tang-shui.* A new proposal for the classification of the genus *Picea* // Acta Phytotax. Geobot. 1982. V. 33. № 4. P. 227–245.
13. *Усенко Н. В.* Деревья, кустарники и лианы Дальнего Востока. Хабаровск, 1984. 272 с.
14. *Ворошилов В. Н.* Критический пересмотр некоторых видов флоры Дальнего Востока // Бюл. ГБС. 1984. Вып. 134. С. 33–39.
15. *Farjon A.* World Checklist and Bibliography of Conifers. Kew: Royal Botanic Gardens, 2001. 309 p.
16. *Потемкин О. Н.* Ель сибирская (*Picea obovata* Ledeb.) в Сибири и на Дальнем Востоке (изменчивость, гибридизация, таксономия): Автoref. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1994. 17 с.
17. *Усов В. Н.* Ель корейская и леса из ели корейской в Приморском крае: Автoref. дис. д-ра с.-х. наук. Уссурийск, 2006. 32 с.
18. *Потемкин О. Н., Рудиковский А. В., Потемкина О. В.* Полиморфизм морфологических характеристик елей подрода *Picea* (Pinaceae) в восточных районах обитания // Растительный мир Азиатской России. 2012. № 2(10). С. 19–26.
19. *Карпюк Т. В., Владимирова О. С., Муратова Е. Н.* Кариологический анализ ели корейской (*Picea koraiensis* Nakai) // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2005. № 4. С. 67–77.
20. *Potenko V. V.* Relationships among spruces (*Picea* A. Dietr., Pinaceae) of the Russian Far East // Plant Syst. Evol. 2007. V. 268. № 1–4. P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0551-0>
21. Plants of the World Online, 2024. <https://powo.science.kew.org> (дата обращения: 24.05.2024).
22. World Flora Online, 2024. <http://www.worldfloraonline.org> (дата обращения: 24.05.2024).
23. *Du F. K., Petit R. J., Liu J. Q.* More introgression with less gene flow: Chloroplast vs. mitochondrial DNA in the *Picea asperata* complex in China, and comparison with other Conifers // Mol. Ecol. 2009. V. 18. P. 1396–1407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04107.x>
24. *Wang Y, Jiang Z, Qin A. et al.* Population structure, genetic diversity and candidate genes for the adaptation to environmental stress in *Picea koraiensis* // Plants. 2023. V. 12(6). P. 1266. <https://doi.org/10.3390/plants12061266>
25. *Голубец М. А.* Современная трактовка объема вида *Picea abies* (L.) Karst. и его внутривидовых таксонов // Ботан. журн. 1968. Т. 53. № 8. С. 1048–1062.
26. *Orlova L., Gussarova G., Glazkova E. et al.* Systematics and distribution of spruce species in the North-West of Russia // Dendrobiology. 2020. V. 84. P. 12–29. <http://dx.doi.org/10.12657/denbio.084.002>
27. *Giannini R., Morgante M., Vendramin G.G.* Allozyme variation in Italian populations of *Picea abies* (L.) Karst. // Silvae Genetica. 1991. V. 40. № 3–4. P. 160–166.
28. *Krutovskii K. V., Bergmann F.* Introgressive hybridization and phylogenetic relationships between Norway, *Picea abies* (L.) Karst., and Siberian, *P. obovata* Ledeb., spruce species studied by isozyme loci // Heredity. 1995. V. 74. P. 464–480.
29. *Vendramin G. G., Anzidei M., Madaghie A. et al.* Chloroplast microsatellite analysis reveals the presence of population subdivision in Norway spruce (*Picea abies* K.) // Genome. 2000. V. 43. № 1. P. 68–78. <https://doi.org/10.1139/g99-093>
30. *Meloni M., Perini D., Binelli G.* The distribution of genetic variation in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) populations in the western Alps // J. Biogeography. 2007. V. 34. № 6. P. 929–938. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01668.x>
31. *Scotti I., Gugerli F., Pastorelli R. et al.* Maternally and paternally inherited molecular markers elucidate population patterns and inferred dispersal processes on a small scale within a subalpine stand of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) // Forest Ecology

and Management. 2008. V. 255. № 11. P. 3806–3812. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.03.023>

32. *Tollefsrud M. M., Kissling R., Gugerli F. et al.* Genetic consequences of glacial survival and post-glacial colonization in Norway spruce: Combined analysis of mitochondrial DNA and fossil pollen // Mol. Ecol. 2008. V. 17. № 18. P. 4134–4150. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03893.x>

33. *Tollefsrud M. M., Sonstebo J. H., Brochmann C. et al.* Combined analysis of nuclear and mitochondrial markers provide new insight into the genetic structure of North European *Picea abies* // Heredity. 2009. V. 102. № 6. P. 549–562. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.16>

34. *Мудрик Е. А., Политов Д. В., Белоконь М. М., Привалихин С. Н.* Генетическая изменчивость ели европейской по данным микросателлитных локусов // Биосфера Земли: прошлое, настоящее и будущее: Материалы конф. молодых ученых (21–25 апреля 2008), ИЭРиЖ УрО РАН. Екатеринбург: Гоцицкий, 2008. С. 154–157.

35. *Tollefsrud M. M., Sperisen Ch.* Paternal introgression from Siberian spruce (*Picea obovata*) to Norway spruce (*P. abies*): Tracing pollen and seed flow with chloroplast and mitochondrial DNA // Conservation of Forest Genetic Resources in Siberia: Proc. 3-rd Intern. conf. (August 23–29, 2011). Krasnoyarsk, Russia, 2011. P. 162.

36. *Tollefsrud M. M., Latałowa M., van der Knaap W. O. et al.* Late Quaternary history of North Eurasian Norway spruce (*Picea abies*) and Siberian spruce (*Picea obovata*) inferred from macrofossils, pollen and cytoplasmic DNA variation // J. Biogeography. 2015. V. 42. № 8. P. 1431–1442. <https://doi.org/10.1111/jbi.12484>

37. *Мудрик Е. А., Полякова Т. А., Шатохина А. В. и др.* Пространственное распределение гаплотипов второго интрана гена *nad1* в популяциях комплекса европейской и сибирской елей (*Picea abies*–*P. obovata*) // Генетика. 2015. Т. 51. № 10. С. 1117–1125. <https://doi.org/10.7868/S0016675815100124>

38. *Tsuda Y., Chen J., Stocks M. et al.* The extent and meaning of hybridization and introgression between Siberian spruce (*Picea obovata*) and Norway spruce (*Picea abies*): Cryptic refugia as stepping stones to the west? // Mol. Ecol. 2016. V. 25. № 12. P. 2773–2789. <https://doi.org/10.1111/mec.13654>

39. *Мудрик Е. А., Полякова Т. А., Белоконь М. М. и др.* Генетическая дифференциация комплекса *Picea abies*–*P. obovata* по данным локуса *nad1* мтДНК // Сохранение лесных генетических ресурсов: Материалы 5-й Межд. конф.-совещ. (02–07 октября 2017). Гомель: ООО «Колордрук», 2017. С. 143–144.

40. *Chen J., Li L., Milesi P. et al.* Genomic data provide new insights on the demographic history and the extent of recent material transfers in Norway spruce // Evolutionary Applications. 2019. V. 12. № 8. P. 1539–1551. <https://doi.org/10.1111/eva.12801>

41. *Падутов В. Е., Каган Д. И., Ивановская С. И. и др.* Геногеография ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) по данным анализа цитоплазматической ДНК // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2021. Т. 65. № 4. С. 439–447. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-4-439-447>

42. *Li L., Milesi P., Tiret M. et al.* Teasing apart the joint effect of demography and natural selection in the birth of a contact zone // New Phytologist. 2022. V. 236. P. 1976–1987. <https://doi.org/10.1111/nph.18480>

43. *Zhou O., Karunaratne P., Andersson-Li L. et al.* Recurrent hybridization and gene flow shaped Norway and Siberian spruce evolutionary history over multiple glacial cycles // Mol. Ecol. 2024. V. 33. № 17. P. 1–14. <https://doi.org/10.1111/mec.17495>

44. *Янбаев Ю. А., Шигапов З. Х., Путенихин В. П., Бахтиярова Р. М.* Дифференциация популяций ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) на Южном Урале // Генетика. 1997. Т. 33. № 9. С. 1244–1249.

45. *Путенихин В. П., Шигапов З. Х., Фарукишина Г. Г.* Ель сибирская на Южном Урале и в Башкирском Предуралье (популяционно-генетическая структура). М.: Наука, 2005. 180 с.

46. *Кравченко А. Н., Ларионова А. Я., Милютин Л. И.* Генетический полиморфизм ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в Средней Сибири // Генетика. 2008. Т. 44. № 1. С. 45–53.

47. *Кравченко А. Н., Ларионова А. Я., Экарт А. К.* Генетический полиморфизм популяций ели сибирской *Picea obovata* (Pinaceae) в Азиатской части ареала // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2013. № 2. С. 74–85.

48. *Кравченко А. Н., Экарт А. К., Ларионова А. Я.* Генетическое разнообразие и дифференциация популяций ели сибирской по ядерным микросателлитным локусам // Генетика. 2016. Т. 52. № 11. С. 1262–1269. <https://doi.org/10.7868/S0016675816090083>

49. *Экарт А. К., Семерикова С. А., Семериков В. Л. и др.* Изменчивость аллозимных и cpSSR-маркеров в популяциях ели сибирской // Генетика. 2016. Т. 52. № 3. С. 311–319. <https://doi.org/10.7868/S001667581603005X>

50. *Шилкина Е. А., Ибе А. А., Шеллер М. А., Сухих Т. В.* Генетическая дифференциация популяций *Picea obovata* L. в регионах Сибири // Хвойные бореальной зоны. 2019. Т. 37. № 1. С. 68–73.

51. *Ларионова А. Я., Семерикова С. А., Семериков В. Л. и др.* Полиморфизм микросателлитных локусов хлоропластной ДНК ели сибирской // Экология и эволюция: Материалы межд. симп., посвященного 100-летию академика С.С. Шварца (1–5 апреля

2019). Екатеринбург: Гуманитарный ун-т, 2019. С. 318–320.

52. Экарт А. К., Семериков В. Л., Ларионова А. Я., Кравченко А. Н. Изменчивость локуса *mh44* митохондриальной ДНК в популяциях ели сибирской // Генетика. 2020. Т. 56. № 7. С. 842–847. <https://doi.org/10.31857/S0016675820070036>

53. Ильинов А. А., Топчиева Л. В., Раевский Б. В. Использование микросателлитных маркеров в изучении генофонда ели финской *Picea × fennica* (Regel) Ком. // Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири: Материалы 3-го Межд. совещания (23–29 августа 2011). Красноярск, Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, 2011. С. 57–58.

54. Потокина Е. К., Орлова Л. В., Вишневская М. С. и др. Генетическая дифференциация популяций ели на северо-западе России по результатам маркирования микросателлитных локусов // Экол. генетика. 2012. Т. 10. № 2. С. 40–49.

55. Потокина Е. К., Киселева А. А., Николаева М. А. и др. Использование маркеров органельной ДНК для анализа филогеографии восточно-европейской популяции ели европейской *Picea abies* (L.) H. Karst. // Вавил. журн. генетики и селекции. 2014. Т. 18. №4/1. С. 818–830.

56. Volkova P., Shipunov A., Borisova P. et al. In search of hybridity: the case of Karelian spruces // Silva Fennica. 2014. V. 48. №.2 P. 1–14. <https://doi.org/10.14214/sf.1072>

57. Попов П. П. Распространение особей промежуточной формы в популяциях елей европейской и сибирской // Сиб. лесной журн. 2018. № 4. С. 13–19.

58. Shao C.-C., Shen T.-T., Jin W.-T. et al. Phylogenomics resolves interspecific relationships and indicates multiple historical out-of-North America dispersals through the Bering Land Bridge for the genus *Picea* (Pinaceae) // Mol. Phylogenet. Evol. 2019. V. 141. P. 106610. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106610>

59. Vendramin G. G., Lelli L., Rossi P., Morgante M. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae // Mol. Ecol. 1996. V. 5. P. 595–598.

60. Nasri N., Bojovic S., Vendramin G. G., Fady B. Population genetic structure of the relict Serbian spruce, *Picea omorika*, inferred from plastid DNA // Plant Syst. Evol. 2008. V. 271. P. 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0594-2>

61. Семерикова С.А., Семериков В.Л. Изменчивость хлоропластных микросателлитных локусов у пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и двух дальневосточных видов пихт *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim и *A. sachalinensis* Fr. Schmidt // Генетика. 2007. Т. 43. № 12. С. 1637–1646.

62. Semerikova S. A., Semerikov V. L., Lascoux M. Post-glacial history and introgression in *Abies* (Pinaceae) species of the Russian Far East inferred from both nuclear and cytoplasmic markers // J. Biogeography. 2011. V. 38. № 2. P. 326–340. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02394.x>

63. Семериков В. Л., Семерикова С. А., Дымшакова О. С. и др. Полиморфизм микросателлитных локусов хлоропластной ДНК сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в Азии и Восточной Европе // Генетика. 2014. Т. 50. № 6. С. 660–669. <https://doi.org/10.7868/S0016675814040122>

64. Урусов В. М., Лобанова И. Н., Варченко Л. И. Хвойные российского Дальнего Востока – ценные объекты изучения, охраны, разведения и использования. Владивосток: Дальнаука, 2007. 440 с.

65. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.

66. Devey M. E., Bell J. C., Smith D. N. et al. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // Theoret. Appl. Genetics. 1996. № 92. P. 673–679. <https://doi.org/10.1007/BF00226088>

67. Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. № 1. P. 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>

68. Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. № 6. P. 1358–1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>

69. Meirmans P. G. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure // Evolution. 2006. V. 60. № 11. P. 2399–2402. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb01874.x>

70. Орлов А. Я. Хвойные леса Амгунь-Буреинского междуречья. М., 1955. 208 с.

71. Мочалова О. А., Андрианова Е. А. Об изолированных местонахождениях *Picea obovata* (Pinaceae) на северо-востоке России // Ботан. журнал. 2004. Т. 89. № 12. С. 1823–1839.

Genetic Diversity, Structure and Differentiation of *Picea abies*–*Picea obovata*–*Picea koraiensis* Species Complex According to Data of Chloroplast DNA Microsatellite Analysis

A. Ya. Larionova^{1,*}, S. A. Semerikova², A. K. Ekart¹,
A. N. Kravchenko^{1, **}, V. L. Semerikov², M. A. Polezhaeva²

¹*Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center Siberian Branch, Russian Academy of Sciences», Krasnoyarsk, 660036, Russia*

²*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144, Russia*

*e-mail: alya-larion@yandex.ru

**e-mail: kravchenko-anna.n@yandex.ru

The results of a comparative study of the genetic structure, parameters of intraspecific genetic diversity and spatial differentiation of 35 populations of *Picea abies*–*P. obovata*–*P. koraiensis* species complex, located within the areas of distribution «pure» species and in the contact zones of their ranges were presented. *P. abies* populations from Eastern Europe (Belarus, Poland), spruce populations from the European part of Russia, the Urals and the West Siberian Plain, located in the zone of *P. abies* and *P. obovata* introgressive hybridization, *P. obovata* populations from various parts extensive range of this species in Siberia and Mongolia, as well as *P. koraiensis* populations from the Russian Far East and Northeast China were analysed. The study of genetic variability and differentiation of populations was carried out on the basis of an analysis of the variability of three microsatellite loci: Pt63718, Pt71936 and Pt26081, developed on the basis of *Pinus thunbergii* Parl chloroplast genome. The use of these DNA markers made it possible to obtain data indicating a fairly high degree of *P. koraiensis* genetic divergence from two other spruce species included in the complex, *P. abies* and *P. obovata*. Korean spruce growing in the Far East differs significantly from the populations of these species in the number and composition of haplotypes, the level of genetic diversity and population structure, which gives us reason to consider it as a separate species.

Keywords: *Picea abies*, *P. obovata*, *P. koraiensis*, cpSSR, haplotype variability, population structure, genetic differentiation.