
КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 575.174.015.3:582.475.2

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛОКУСА *mh44* МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ПОПУЛЯЦИЯХ ЕЛИ СИБИРСКОЙ

© 2020 г. А. К. Экарт¹, *, В. Л. Семериков², **, А. Я. Ларионова¹, ***, А. Н. Кравченко¹

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, 660036 Россия

²Институт экологии растений и животных Уральского отделения
Российской академии наук, Екатеринбург, 620144 Россия

*e-mail: aekart@yandex.ru

**e-mail: semerikov@ipae.uran.ru

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

Поступила в редакцию 17.06.2019 г.

После доработки 30.07.2019 г.

Принята к публикации 01.08.2019 г.

Изучена изменчивость локуса *mh44* мтДНК в 24 природных популяциях ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.). Идентифицировано 13 аллельных вариантов, различающихся по числу повторов 32-нуклеотидного минисателлитного мотива. Определены параметры внутри- и межпопуляционного разнообразия, уровень дифференциации включенных в исследование популяций ели.

Ключевые слова: *Picea obovata*, митохондриальная ДНК, внутри- и межпопуляционная генетическая изменчивость, филогеография.

DOI: 10.31857/S0016675820070036

В последние два десятилетия в популяционно-генетических исследованиях хвойных активно используются ДНК-маркеры ядерного и цитоплазматических геномов. Различный тип наследования этих маркеров позволяет решать широкий круг задач популяционной генетики и ботаники. Для филогеографических исследований наиболее информативными оказались маркеры митохондриального генома [1–6 и др.]. Они позволяют не только оценить уровень генетического разнообразия, структуру и степень географической дифференциации популяций хвойных, но и могут успешно использоваться для изучения эволюции, анализа гибридизации, а также для получения информации о расселении видов в послеледниковый период.

Филогеографические исследования наиболее распространенной в России ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в необходимом объеме практически не проводились в связи с отсутствием пригодных для изучения этого вида полиморфных маркеров мтДНК. Широко используемый в филогенетических исследованиях других видов рода *Picea* минисателлитный локус второго интрона гена *nad1* митохондриальной ДНК (мтДНК) оказался малоинформативным для изучения географической дифференциации популяций ели сибирской, так как был мономорфен на большей части ареала вида. Незначительная изменчивость наблюдалась лишь в нескольких популяциях из южных райо-

нов Сибири [3, 7]. Но, как показали исследования, указанный локус может успешно применяться, в том числе совместно с маркерами ядерного и хлоропластного геномов, для выявления пространственной дифференциации популяций на общем ареале видов *Picea abies* и *Picea obovata*, изучения гибридизации и интрогрессии этих видов [3, 4, 7–9]. На основании анализа полиморфизма второго интрона гена *nad1* мтДНК в большой выборке популяций комплекса *Picea abies*–*Picea obovata* идентифицированы три группы высокодифференцированных друг от друга гаплотипов — южноевропейская, североевропейская и сибирская, определена граница географического разделения видов [4, 7].

Очень низкое гаплотипическое разнообразие локуса *nad1* (интрон 2) мтДНК в сибирской группе популяций свидетельствует о неэффективности его использования для изучения филогеографической структуры ели сибирской. Возможно, *Picea obovata* имеет свою собственную историю послеледниковых миграций [8], информация о которой с помощью *nad1* (интрон 2) локуса не является, но может быть получена на основании анализа изменчивости каких-то других маркеров ДНК. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется поиску и разработке на основе геномного секвенирования пригодных для анализа ели сибирской, а также других лесобразующих

видов хвойных Сибири, полиморфных маркеров цитоплазматических геномов [10–12].

В задачи настоящей работы входило изучение структуры изменчивости минисателлитного локуса *mh44* мтДНК ели сибирской из различных районов ее естественного распространения в азиатской части ареала с целью оценки перспективности его использования для популяционно-генетических и филогеографических исследований вида. Ранее locus *mh44* был идентифицирован в митохондриальном геноме *Picea abies* [13] и изучен в 14 популяциях этого вида. В результате были получены данные о высоком генетическом разнообразии и значительной пространственной дифференциации популяций ели европейской по локусу *mh44*, свидетельствующие о том, что locus может быть полезен для выявления географической структуры популяций и исследования истории расселения *P. abies* в послеледниковый период. Именно это обстоятельство и определило выбор минисателлитного локуса *mh44* в качестве маркера митохондриальной ДНК для изучения генетического разнообразия ели сибирской.

Материалом для исследования изменчивости локуса *mh44* мтДНК ели сибирской послужили 24 выборки из популяций, расположенных в Красноярском крае (в т.ч. в Эвенкийском районе), республиках Алтай, Хакасия, Тыва, Бурятия, Якутия, а также в Новосибирской, Иркутской, Магаданской и Амурской областях и в Монголии (табл. 1). Для анализа ДНК использовали высушенную в силикагеле хвою, собранную в каждой популяции с 25–58 деревьев. Всего было проанализировано 720 индивидуумов. Выделение геномной ДНК осуществляли СТАВ-методом [14]. Для амплификации ДНК использовали наборы реагентов GenePak PCR Core (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия) согласно рекомендациям производителя. Амплификацию проводили с парой специфических праймеров: F: GTCCAGAACTCACAGCTTTA и R: TTCACTTGATACTCACCCCC при следующем режиме: первичная денатурация при 95°C – 5 мин, далее 35 циклов, включающих денатурацию при 94°C – 40 с, отжиг праймеров при 55°C – 40 с, элонгацию при 72°C – 45 с, и завершающая элонгация при 72°C – 8 мин. Продукты амплификации разделяли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле и окрашивали бромистым этидием. Для верификации структуры и размера амплифицируемого фрагмента каждый обнаруженный вариант ресеквенировали с той же парой праймеров. Варианты размера фрагментов рассматривали в качестве аллелей данного локуса.

Для каждой популяционной выборки ели сибирской в пакете программ GenAlex 6.5 [15] определены основные параметры генетического разнообразия: N_a – число выявленных аллелей, h – гаплотипическое разнообразие, uh – несмещенное гаплоти-

пическое разнообразие [16]. Кроме того, был рассчитан индекс фиксации *PhiPT* [17], отражающий меру генетических различий между популяциями, и проведен анализ иерархической структуры изменчивости (AMOVA). Индекс фиксации *PhiPT* является аналогом индекса фиксации F_{st} для гаплоидных данных, но в отличие от F_{st} не зависит от величины внутривидовой изменчивости. Ординация изученных популяций была произведена по данным PCA-анализа матрицы парных значений индексов фиксации *PhiPT*.

При исследовании локуса *mh44* у 720 деревьев из 24 популяций, расположенных на территории, охватывающей значительную часть ареала этого вида (от 47°48' с.ш. до 65°47' с.ш. и от 84°37' в.д. до 153°04' в.д.), идентифицировано 13 аллельных вариантов, различающихся по числу повторов 32-нуклеотидного минисателлитного мотива. В соответствии с обозначением аллельных вариантов по Bastien et al. [13] изменчивость локуса *mh44* у ели сибирской может быть представлена как $(PaTRI)_{1-13} + (PaTR2b)_1$. Число аллелей, выявленных в отдельных популяциях, варьирует от 1 до 11, составляя в среднем 5.54 ± 0.69 (табл. 1). По одному аллелю обнаружено в популяциях ели из Магаданской области и Якутии (Магадан, Якутск), а также в трех популяциях из Бурятии (Хамар-Дабан, Убукун, Кабанск), в которых locus *mh44* оказался мономорфным. Самое большое число аллелей наблюдалось в популяции Майский из Хакасии.

Наиболее распространенным оказался аллель, представленный одной копией мотива (табл. 2). Он обнаружен в 23 из 24 включенных в исследование популяций ели сибирской с частотой, варьирующей от 3 (Ильинка, Красноярско) до 100% (Магадан, Якутск, Хамар-Дабан, Убукун, Кабанск), со средним значением равным 53%. Частоты остальных аллелей (2–10) не превышали в среднем 10%, хотя в отдельных популяциях встречаемость некоторых из них достигала значительных величин. Так, например, в изолированной популяции ели с байкальского острова Ольхон частота аллеля 6, представленного шестью копиями мотива, составила 82%. В популяции Елбань наиболее частым среди выявленных аллелей был аллель 3 (68%), а в популяции Азас – аллель 8 (45%). Три аллеля (11, 12, 13) с наибольшим числом копий мотива являлись редкими. Средние частоты этих аллелей равны соответственно 0.010, 0.004 и 0.003.

Несмещенное гаплотипическое разнообразие *uh* локуса *mh44* в изученных популяциях ели сибирской варьирует от 0 в популяциях, в которых locus мономорфен, до 0.890 в популяции Талая из Амурской области (табл. 1). Высокое гаплотипическое разнообразие, близкое к максимальному, наблюдается в популяциях Малый Мамай, Косая Степь, Ильинка, Красноярско (*uh* равно 0.814, 0.872, 0.880 и 0.880 соответственно). В не-

Таблица 1. Местоположение и параметры изменчивости популяций ели сибирской, исследованных с помощью митохондриального локуса *mh44*

Популяция, регион	с.ш./в.д.	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>h</i>	<i>uh</i>
Ильинка, Республика Алтай	51°22′/85°10′	30	9	0.851	0.880
Елбань, Новосибирская обл.	54°18′/84°37′	28	3	0.457	0.474
Майский, Хакасия	53°36′/90°00′	29	11	0.756	0.783
Азас, Тыва	52°25′/96°33′	29	9	0.756	0.783
Ергаки, Красноярский край	52°46′/93°23′	28	3	0.255	0.265
Туруханск, Красноярский край	65°47′/87°58′	30	6	0.300	0.310
Тура, Эвенкия	64°18′/100°25′	30	5	0.742	0.768
Тунгусский з-к, Эвенкия	60°37′/101°39′	30	6	0.551	0.570
Ванавара, Эвенкия	60°21′/102°16′	30	9	0.616	0.637
Кочечум, Эвенкия	64°19′/100°14′	29	2	0.128	0.133
Ольхон, Иркутская обл.	53°15′/107°43′	27	5	0.326	0.339
Косая Степь, Иркутская обл.	52°51′/106°04′	29	9	0.842	0.872
Тулюшка, Иркутская обл.	54°27′/101°12′	25	3	0.486	0.507
Выдрино, Бурятия	51°26′/104°43′	58	9	0.530	0.539
Малый Мамай, Бурятия	51°27′/104°48′	30	9	0.787	0.814
Убукун, Бурятия	51°28′/106°43′	30	1	0.000	0.000
Хамар-Дабан, Бурятия	51°32′/105°52′	27	1	0.000	0.000
Красноярово, Бурятия	51°51′/107°16′	30	9	0.851	0.880
Кабанск, Бурятия	51°59′/106°32′	25	1	0.000	0.000
Баргузин, Бурятия	54°35′/110°47′	30	5	0.689	0.713
Богд-Уул, Монголия	47°48′/106°51′	30	7	0.747	0.772
Якутск, Якутия	62°02′/129°44′	30	1	0.000	0.000
Талая, Амурская обл.	49°47′/130°14′	30	9	0.860	0.890
Магадан, Магаданская обл.	59°39′/153°04′	26	1	0.000	0.000
Среднее		30 (1.26)	5.54 (0.69)	0.480 (0.006)	0.497 (0.068)

Примечание: *N* — размер выборки, *N_a* — число выявленных аллелей, *h* — гаплотипическое разнообразие, *uh* — несмещенное гаплотипическое разнообразие [16]; в скобках — стандартная ошибка.

скольких популяциях, в частности Кочечум, Ергаки, Туруханск из Красноярского края, а также в популяции с о-ва Ольхон гаплотипическое разнообразие локуса *mh44* было самым низким среди включенных в исследование популяций ели. Значение *uh* в этих популяциях составило соответственно 0.133, 0.265, 0.310 и 0.339. В среднем ($uh_{cp} = 0.497$) изученные популяции ели сибирской обнаруживают достаточно высокий уровень гаплотипического разнообразия по исследованному митохондриальному локусу.

Анализ иерархической структуры изменчивости AMOVA показал, что 25% гаплотипического разнообразия ($PhiPT = 0.253$, $P = 0.01$), выявленного при исследовании 24 популяций ели сибирской, распределяется между популяциями, а остальные 75% — внутри популяций. Полученные данные свидетельствуют о существенной межпо-

пуляционной дифференциации популяций ели сибирской по локусу *mh44*. В то же время необходимо отметить, что установленное нами значение индекса фиксации $PhiPT$ было существенно ниже значений, полученных для маркеров мтДНК при использовании другого индекса фиксации, F_{st} , у видов хвойных, имеющих ареалы, сходные с ареалом *P. obovata*: *Larix sibirica* ($F_{st} = 64\%$) и *Abies sibirica* ($F_{st} = 93\%$) [12, 18]. Это может быть вызвано гомоплазией минисателлитного локуса *mh44*, а также быстрым заселением всей исследованной части ареала *P. obovata* из одного источника, что не способствовало формированию резко выраженной географической структуры генетической изменчивости.

Наглядно иллюстрирует установленный уровень межпопуляционной дифференциации ели сибирской ординация популяций на плоскости

Таблица 2. Частоты выявленных в локусе *mh44* аллелей в изученных популяциях ели сибирской

Популяция	Аллели												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ильинка	0.03	0.13	0.17	0.13	0.24	—	0.04	0.10	—	0.13	0.03	—	—
Елбань	0.29	—	0.68	—	—	—	—	—	0.03	—	—	—	—
Майский	0.45	0.04	0.14	0.04	0.04	0.04	0.10	—	0.04	0.04	0.07	0.03	—
Азас	0.07	—	—	0.07	0.10	0.07	0.07	0.45	0.10	0.03	0.03	—	—
Ергаки	0.86	—	0.07	—	0.07	—	—	—	—	—	—	—	—
Туруханск	0.84	—	—	0.04	—	0.03	—	0.03	—	0.03	—	—	0.03
Тура	0.33	—	—	0.03	—	0.30	—	—	0.17	0.17	—	—	—
Тунгусский	0.64	0.07	—	—	—	—	—	0.20	0.03	0.03	—	0.03	—
Ванавара	0.60	—	0.10	0.07	0.04	0.03	0.03	0.07	0.03	0.03	—	—	—
Кочечум	0.93	—	—	—	—	—	0.07	—	—	—	—	—	—
Ольхон	0.07	—	—	—	—	0.82	0.04	0.04	—	0.03	—	—	—
Косая Степь	0.07	0.04	0.21	—	0.10	0.21	0.03	0.21	0.10	0.03	—	—	—
Тулюшка	0.64	0.32	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Выдрино	0.67	0.02	0.07	0.05	0.02	0.02	0.03	—	0.09	—	0.03	—	—
М. Мамай	0.40	0.03	0.10	0.13	0.10	—	—	0.07	—	0.07	0.07	—	0.03
Убукун	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хамар-Дабан	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Красноярово	0.03	0.24	—	0.10	0.10	0.13	0.20	0.10	0.03	0.07	—	—	—
Кабанск	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Баргузин	0.47	—	0.17	—	—	—	—	0.10	0.23	—	0.03	—	—
Богд-Уул	—	—	0.14	0.03	0.34	0.10	0.33	—	0.03	—	—	0.03	—
Якутск	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Талая	0.20	0.07	0.17	0.03	0.13	0.17	0.10	—	0.10	0.03	—	—	—
Магадан	1.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Среднее	0.53	0.04	0.09	0.03	0.05	0.08	0.04	0.05	0.05	0.03	0.01	0.004	0.003

двух координат, полученная по данным PCA анализа матрицы парных значений индексов фиксации *PhiPT*. На рис. 1 видно, что многие из включенных в исследование популяций ели сибирской пространственно удалены друг от друга. Наиболее обособлена от большинства популяций популяция ели сибирской с о-ва Ольхон, в которой преобладает аллель 6, имеющий в среднем достаточно низкую частоту встречаемости в остальных популяциях. Максимальный уровень дифференциации наблюдается между этой популяцией и популяциями Якутск и Убукун.

Следует, однако, отметить, что ординация популяций методом главных координат на основе парных значений *PhiPT* не выявила каких-либо географических закономерностей в распределении аллелей в пределах изученной части ареала ели сибирской. В связи с этим исследованный на-

ми локус *mh44* оказался непригодным для филогеографических исследований этого вида. Тем не менее благодаря своей высокой изменчивости и межпопуляционной дифференциации он может быть полезен в совокупности с другими маркерами мтДНК для исследования пространственной генетической структуры на внутри- и межпопуляционных уровнях, выявления потомства материнских деревьев и решения ряда других задач популяционной генетики, основанных на применении молекулярно-генетических маркеров.

Работа выполнена по базовому проекту № 0356-2019-0024 при частичной поддержке РФФИ (проект № 13-04-00777а).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

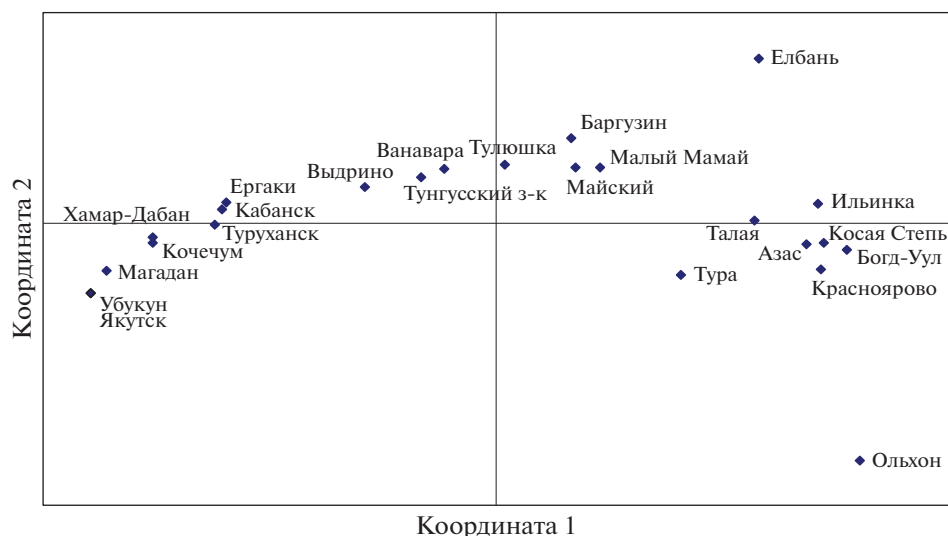


Рис. 1. Ординация изученных популяций ели сибирской на плоскости двух координат по данным PCA-анализа матрицы парных значений индексов фиксации *PhiPT*.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gugerli F., Sperisen C., Buchler U. et al. Haplotype variation in a mitochondrial tandem repeat of Norway spruce (*Picea abies*) populations suggests a serious founder effect during postglacial recolonization of the western Alps // *Mol. Ecol.* 2001. V. 10. № 5. P. 1255–1263. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01279.x>
2. Ran J.-H., Wei X.-X., Wang X.-Q. Molecular phylogeny and biogeography of *Picea* (Pinaceae): implications for phylogeographical studies using cytoplasmic haplotypes // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2006. V. 41. № 2. P. 405–419. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.039>
3. Tollefsrud M.M., Kissling R., Gugerli F. et al. Genetic consequences of glacial survival and postglacial 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>
4. 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. Biogeogr.* 2015. V. 42. № 8. P. 1431–1442. <https://doi.org/10.1111/jbi.12484>
5. Lockwood J.D., Aleksic J.M., Zou J. et al. A new phylogeny for the genus *Picea* from plastid, mitochondrial, and nuclear sequences // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013. V. 69. № 3. P. 717–727. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.004>
6. Semerikov V.L., Semerikova S.A., Putintseva Yu.A. et al. Colonization history of Scots pine in Eastern Europe and North Asia based on mitochondrial DNA variation // *Tree Genetics & Genomes*. 2018. V. 14. № 8. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1222-0>
7. Мудрик Е.А., Полякова Т.А., Шатохина А.В. и др. Пространственное распределение гаплотипов второго интрона гена *nad1* в популяциях комплекса европейской и сибирской елей (*Picea abies*—*P. obovata*) // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 10. С. 1117–1125. <https://doi.org/10.1134/S1022795415100129>
8. Потокина Е.К., Киселева А.А., Николаева М.А. и др. Использование маркеров органелльной ДНК для анализа филогеографии восточноевропейской популяции ели европейской *Picea abies* (L.) Н. Karst. // *Вавиловский журн. генетики и селекции*. 2014. Т. 18. № 4/1. С. 818–830.
9. 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>
10. Семериков В.Л., Путинцева Ю.А., Орешкова Н.В. и др. Разработка новых маркеров митохондриальной ДНК сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) для популяционно-генетических и филогеографических исследований // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 12. С. 1386–1390. <https://doi.org/10.7868/S0016675815120103>
11. Экарт А.К., Семериков В.Л., Полежаева М.А. и др. Разработка маркеров мтДНК для популяционно-генетических исследований ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) // *Генетика популяций: прогресс и перспективы: Материалы Межд. науч. конф. (Москва, 17–21 апреля 2017 г.)*. М.: Ваш формат, 2017. С. 329–330.

12. *Semerikov V.L., Semerikova S.A., Putintseva Yu.A. et al.* Mitochondrial DNA in Siberian conifers indicates multiple postglacial colonization centers // *Can. J. For. Res.* 2019. V. 49. P. 875–883.
<https://doi.org/10.1139/cjfr-2018-0498>
13. *Bastien D., Favre J.M., Collignon A.M. et al.* Characterization of a mosaic minisatellite locus in the mitochondrial DNA of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 107. P. 574–580.
<https://doi.org/10.1007/s00122-003-1284-2>
14. *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 // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. P. 673–679.
<https://doi.org/10.1007/BF00226088>
15. *Peakall R., Smouse P.E.* GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics.* 2012. № 28. P. 2537–2539.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
16. *Nei M.* *Molecular Evolutionary Genetics.* N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.
17. *Meirmans P.G.* Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure // *Evolution.* 2006. V. 60. P. 2399–2402.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb01874.x>
18. *Semerikov V.L., Semerikova S.A., Polezhaeva M.M. et al.* Southern montane populations did not contribute to the recolonization of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): a range-wide analysis of cytoplasmic markers // *Mol. Ecol.* 2013. V. 22. P. 4958–4971.
<https://doi.org/10.1111/mec.12433>

Variability of the *mh44* Locus of Mitochondrial DNA in Siberian Spruce Populations

A. K. Ekart^{a,*}, V. L. Semerikov^{b,**}, A. Ya. Larionova^{a,***}, and A. N. Kravchenko^a

^a*Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

^b*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, 620144 Russia*

*e-mail: aekart@yandex.ru

**e-mail: semerikov@ipae.uran.ru

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

The variability of the mitochondrial locus *mh44* was studied in 24 natural populations of Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.). Thirteen allelic variants differing in the number of repeats of the 32-nucleotide minisatellite motif were identified. The parameters of intra- and interpopulation diversity and the level of differentiation of the spruce populations included in the study were determined.

Keywords: *Picea obovata*, mitochondrial DNA, intra- and interpopulation genetic diversity, phylogeography.