

УДК 575.8:582.632.1

ПОЛИМОРФИЗМ ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК И ФИЛОГЕОГРАФИЯ ОЛЬХИ ЗЕЛЕННОЙ (*Alnus alnobetula* (Ehrh.) K. Koch s. l.) В АЗИАТСКОЙ РОССИИ© 2018 г. Е. В. Хантемирова<sup>1</sup>, \*, Е. А. Пименова<sup>2</sup>, \*\*, О. С. Корчагина<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург 620144<sup>2</sup>Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690024

\*e-mail: hantemirova@ipae.uran.ru

\*\*e-mail: pimenova@botsad.ru

Поступила в редакцию 15.02.2017 г.

Проведено исследование филогеографии *Alnus alnobetula* s. l. в азиатской части российского ареала с использованием сиквенсов хлоропластной ДНК (хпДНК) (межгенные спейсеры *trnH-psbA*, *trnS-trnG*, *psaA-trnS*). В результате комбинации полиморфизма всех сайтов у 241 растения в 20 популяциях *A. alnobetula* выделены девять гаплотипов. Обнаружены высокая межпопуляционная дифференциация ( $G_{ST} = 0.914$ ,  $N_{ST} = 0.928$ ) и значительная филогеографическая структура ( $N_{ST} > G_{ST}$ ,  $p < 0.05$ ). Реконструкция генеалогических отношений гаплотипов ольхи зеленой выявила пять высокодивергентных генетических линий: одну географически широко распространенную по всей Сибири и на Урале и несколько аллопатрических линий на Дальнем Востоке России, а именно п-ов Чукотка и устье р. Яна, Магаданская область, Приморье и центральная часть о-ва Сахалин, южная часть о-ва Сахалин. Наши данные подтверждают, что в прошлом ареал этого вида на Дальнем Востоке был фрагментирован в нескольких рефугиумах, которые были длительное время изолированы в различных свободных ото льда регионах. Это могло способствовать высокому уровню внутривидового полиморфизма ольхи зеленой в результате дивергенции эндемичных гаплотипов, с почти неперекрывающимся распространением. Однако уровень их молекулярной дивергенции не соответствует уровню морфологических различий.

**Ключевые слова:** ольха зеленая, ольховник, *Alnus alnobetula*, хпДНК, Дальний Восток, последний ледниковый максимум, филогеография.

**DOI:** 10.7868/S0016675818010058

“Растительный мир страны с отдаленнейших времен оставался не потревоженным какими-либо резкими деструктивными явлениями, подобными оледенениям Европы, с последующими барьерами на пути вроде горных цепей”. Эти слова А.Н. Криштофовича [1] относятся к лесной растительности самой восточной части России – Дальнему Востоку. Маньчжурский флористический центр, охватывающий бассейн Уссури и отчасти Амура, является классическим районом третичных лесов, наиболее древним из всех гумидных центров. Предполагают, что одним из таких древних древесных родов, сохранившихся здесь еще с третичных времен, является род *Alnus* [2].

Современные молекулярные методы дают возможность восстановить историю расселения и сохранения этого рода в прошлые геологические эпохи, оценить влияние плейстоценовых оледенений на его филогенетическую структуру. Климатические колебания в четвертичном периоде приводили к чередованию этапов сокращений и

экспансий численности большинства организмов, и такие изменения, несомненно, оставили след в генетической структуре современных популяций этих видов [3, 4]. Географическое распределение генетической изменчивости позволяет сделать заключения о локализации ледниковых рефугиумов и направлении послеледниковых миграций большинства древесных видов, которые в основном совпадают с данными по ископаемым остаткам этих видов и часто помогают при отсутствии их.

Для разных видов растений с помощью генетических методов получено множество сценариев постгляциального распространения, зависящих от биологических особенностей видов, характера их современных ареалов. Для теплолюбивых деревьев филогеографический сигнал оказывается более четким: *Fagus* [5], *Quercus* [6], *Alnus glutinosa* [7–9], *Acer*, *Carpinus*, *Fraxinus* [10]. Для более холодостойких видов с широким ареалом – *Alnus incana* [11, 12], *Larix* sp. [13, 14], *Picea abies* [15], *Betula pubescens*, *B. pendula* [16], *Salix caprea* [17], *Dryas octo-*

*petala* [18], *Vaccinium uliginosum* и *V. vitis-idaea* [19, 20], *Juniperus communis* [21] такой сигнал может отсутствовать или иметь сложный характер, который трудно интерпретировать, так как он может относиться к более ранним ледниковым эпохам, предшествующим последнему ледниковому максимуму (ПЛМ).

Объектом наших исследований является широко распространенный евразийско-североамериканский бореально-арктический вид — ольха (ольховник) зеленая *Alnus alnobetula* (Ehrh.) K. Koch s. l. (= *Alnus viridis* (Chaix) DC., *Duschekia viridis* (Chaix) Opiz, *D. alnobetula* (Ehrh.) Pouzar), сем. Betulaceae (здесь и далее названия даны по: [22, 23]). В русскоязычной литературе этот вид более известен как *Alnus fruticosa* Rupr. s. l. или *Duschekia fruticosa* (Rupr.) Pouzar. s. l. В соответствии с установленным номенклатурным приоритетом действительным считается использование названия *Alnus alnobetula* (Ehrh.) K. Koch [24]. В пределах обширного ареала этого вида выделяют подвиды — *A. alnobetula* subsp. *sinuata* (Regel) Raus, *A. alnobetula* subsp. *crispa* (Aiton) Raus для Северной Америки, *A. alnobetula* subsp. *alnobetula* для Центральной Европы и Балканского полуострова, *A. alnobetula* subsp. *maximowiczii* (Callier ex C.K. Schneid.) J. Chery для Японии, *A. alnobetula* subsp. *mandschurica* (Callier ex C.K. Schneid.) J. Chery для Китая и *A. alnobetula* subsp. *fruticosa* (Rupr.) Raus для северной части Евразии [24, 25].

В России этот вид распространен в основном в высоких широтах (переходит за 72° с.ш.), но встречается также и в более южных областях — в Южной Сибири, Забайкалье, Приморье и на Сахалине. Западная граница — бассейн р. Мезень, 45° з.д., 66° с.ш. [26].

Сочетание морфологических и экологических свойств ольхи зеленой свидетельствует о большом эволюционном потенциале этого вида. Образуя особую стелющуюся биоморфу с высокой плотностью побегов, он успешно справлялся с климатическими изменениями в прошлом [27]. В отличие от других более теплолюбивых видов этого рода *A. alnobetula* сформировался в условиях прогрессивного похолодания планеты и входил в состав кустарниковых тундр межледниковых периодов. Пыльца и ископаемые остатки листьев, плодов этого вида характерны для пионерных стадий восстановительных сукцессий в межледниковые периоды [28]. Например, в Северо-Западном Квебеке максимальное количество пыльцы *Alnus* обнаружено в озерных отложениях возрастом 5000–6000 лет [29], на территории Западной Берингии этот максимум был 28000–15000 лет назад [30]. В Северной и Центральной Якутии (западнее Верхоянского хребта) большое количество пыльцы *Alnus* найдено в отложениях, датированных концом ПЛМ и началом голоцена [31].

В настоящее время эти кустарниковые сообщества продуцируют намного больше надземной фитомассы, чем любые другие субальпийские или субарктические кустарники, и имеют огромное значение в укреплении, обогащении почв и создании условий для будущих стадий сукцессий при возможных изменениях климата. В последнее время в связи с глобальным потеплением обнаружена экспансия ольхи зеленой в арктических тундрах [32, 33] и Альпах [34, 35]. Изучение прошлого этого вида, типа его послеледниковых миграций может помочь в понимании его эволюционной роли и оценке ответа разных генетических линий на будущие климатические изменения.

Несмотря на то что *A. alnobetula* является довольно распространенным объектом в палеогеографических и филогенетических работах, до сих пор нет единого мнения ни относительно таксономии этого полиморфного вида, ни о его филогеографии. Так, на Дальнем Востоке России выделяют несколько видов со спорным таксономическим статусом, неопределенными морфологическими признаками и перекрывающимися ареалами: во “Флоре СССР” [26] приводятся виды — *Alnus fruticosa* Rupr., *A. manshurica* (Callier) Hand.-Mazz., *A. maximowiczii* Callier, *A. kamtschatica* (Callier) Kom. С.К. Черепанов [36] при переработке существующей системы рода *Alnus* s. l. принимает род *Alnaster* Spach. с видами *A. mandshuricus* Jarm., *A. glutipes* Jarm. ex Czerpek, *A. fruticosus* (Rupr.) Ledeb., *A. kamtschaticus* (Callier) Czerep. и он же в сводке “Сосудистые растения России и сопредельных государств” [37] принимает род *Duschekia* Opiz с видами *D. fruticosa* (Rupr.) Pouzar, *D. manshurica* (Callier ex Kom.) Pouzar, *D. kamtschatica* (Callier) Pouzar, *D. maximowiczii* (Callier) Pouzar и *D. sinuata* (Regel) Pouzar. Другие авторы считают все эти виды синонимами *Alnus fruticosa* [38]. Еще Е. Hultén [39] писал, что в Евразии и Северной Америке произрастает один полиморфный вид *A. fruticosa*.

Одни из главных диагностических признаков, по которым выделяют эти виды, — метрические параметры листа сильно варьируют в зависимости от условий местообитаний [40]. По результатам морфологического анализа авторы пришли к выводу, что все изученные формы ольховников из Азиатской России являются не более чем экотипами полиморфного вида *A. fruticosa*. Секвенирование ITS-последовательностей в этой же работе отделило только популяцию *A. viridis* из Словакии от азиатских видов.

Китайские исследователи также не смогли найти таких генетических маркеров, которые позволили бы дифференцировать все известные разновидности ольхи зеленой. Построенная ими филогения рода *Alnus* (с использованием хпДНК и ITS) объединила все европейские, азиатские и

североамериканские виды в один видовой комплекс *A. viridis* [41, 42]. Отсутствие дивергенции авторы связывают с относительно недавней историей диверсификации видов ольхи зеленой на всем циркумполярном ареале. Это может также зависеть от небольшого числа популяционных выборок и генетических маркеров, используемых в работе китайских исследователей. Необходимы поиск других более изменчивых генетических маркеров и охват более широкого ареала вида с привлечением большего числа образцов растений из различных популяций.

Цель нашей работы – изучить биогеографию, диверсификационную историю и решить некоторые таксономические проблемы у *A. alnobetula* из азиатской части российского ареала, установив связи между популяциями горных и тундровых систем Арктики, Дальнего Востока России, Урала, Сибири посредством изучения географической структуры хлоропластных маркеров. Особое внимание уделяется восточному краю ареала этого вида, находящемуся за Верхоянским хребтом, так как именно для этой территории характерно наибольшее формовое разнообразие вида, определяемое наличием экотопов с экологическим оптимумом [43].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

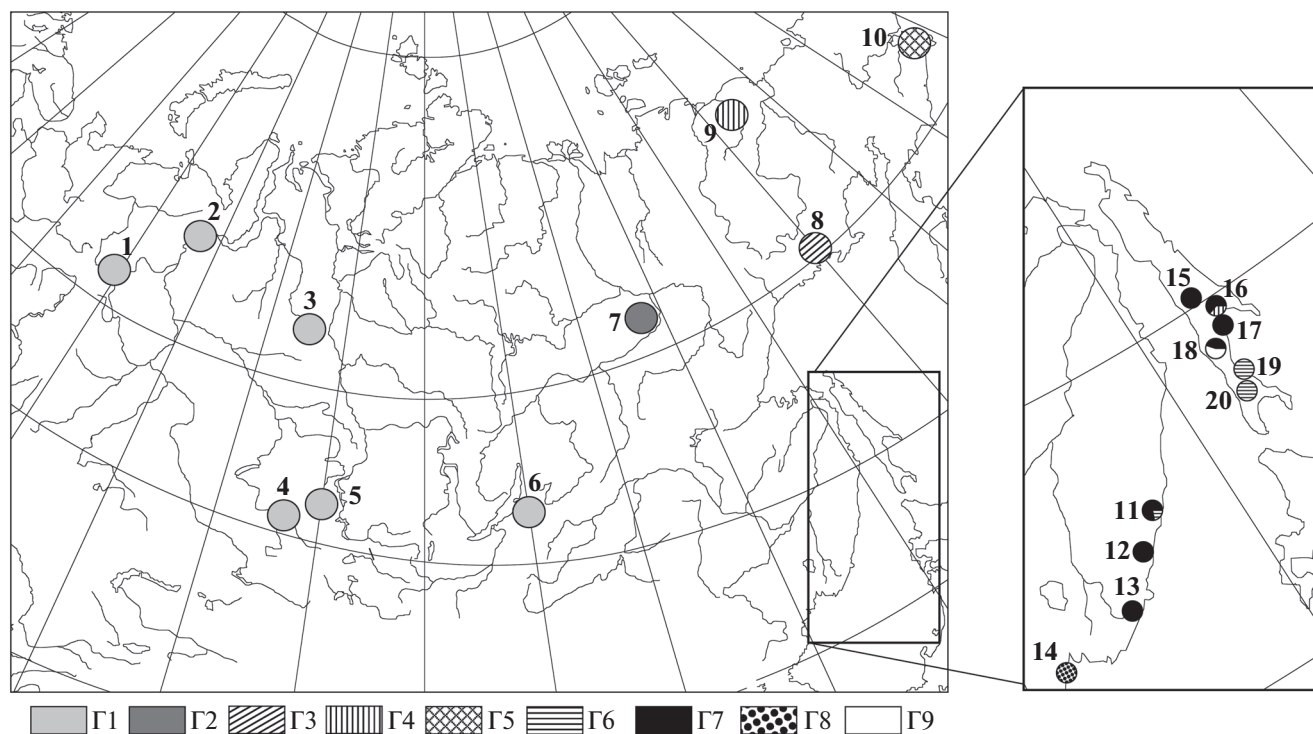
### *Популяционные выборки, выделение ДНК, ПЦР-амплификация и секвенирование*

Высушенные в силикагеле листья или зимние ветки для последующей выгонки листьев были собраны в 20 популяциях *A. alnobetula* на территории Азиатской России (рис. 1, табл. 1). Кроме того, в каждой популяции закладывали в гербарий несколько растений, взятых случайным образом. Геномная ДНК выделена с помощью СТАВ-метода [44] и использована для ПЦР-амплификации трех фрагментов хлоропластной ДНК: *trnH-psbA*, *trnS-trnG* [45], *psaA-trnS* [46]. В предварительном исследовании нами были использованы четыре образца хлДНК ольхи для тестирования универсальных праймеров 27 регионов [45–50]. Температуру отжига тестировали в градиенте между 50 и 60°C. Амплификацию отобранных регионов проводили в 10 мкл раствора с 1× PCR буфера (75 мМ трис-НСl (рН 8.8), 20 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.01% твин 20), 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 200 мМ dNTPs на каждый образец, 0.2 мМ каждого праймера, 0.5 U *Taq*-полимеразы (Сибэнзим) и 10 нг ДНК. Всего был успешно амплифицирован и использован для последующего скрининга полиморфизма 21 хлоропластный регион. На выборке из 48 индивидов из разных популяций ПЦР-продукты были разрезаны пятью рестриктазами (*Hae*III, *Hinf*I, *Taq*I, *Alu*, *Tru*9). Продукты рестрикции были разделены индивидуально в 6%-ном денатурирующем поли-

акриламидном геле с последующим окрашиванием серебром. Полиморфизм был обнаружен в трех фрагментах хлДНК: *trnH-psbA*, *trnS-trnG*, *psaA-trnS*. Эти три региона и были использованы при проведении ПЦР для всех образцов из 20 популяций (всего 241 образец). Полученные ПЦР-продукты для *trnS-trnG*, *psaA-trnS* были разрезаны рестриктазой *Hinf*I, а для *trnH-psaA* – *Tru*9. Для каждого фрагмента все гаплотипы, идентифицированные с помощью RFLP, были секвенированы по крайней мере для одного образца (всего 75 образцов). Для этих целей ПЦР-бэнды были вырезаны из 1.0%-ного агарозного геля, изолированы с частицами SiO<sub>2</sub> и затем использованы для прямого секвенирования при помощи BigDye v. 3.1 kit (Gene Analyzers 3130; Applied Biosystems, Foster City, CA). ПЦР-фрагмент секвенировали с обеих сторон ПЦР-праймерами. Редактирование и выравнивание полученных последовательностей выполняли вручную в программе BioEdit [51]. Полученные последовательности межгенных спейсеров депонированы в GenBank под номерами MF437039–MF437050.

С помощью пакета программ Arlequin v. 3.5.1.2 [52] определяли уровень дифференциации и распределение генетической изменчивости между группами гаплотипов (анализ молекулярной вариации, AMOVA). Значение  $F_{ST}$  было получено для измерения молекулярной дивергенции между популяциями и группами популяций. С помощью этой же программы вычисляли индексы молекулярного разнообразия – разнообразие гаплотипов ( $H_c$ ) и нуклеотидное разнообразие ( $\pi$ ). Для выявления событий популяционной экспансии в истории вида использовали анализ парных генетических дистанций (mismatch distribution).  $F_s$ -статистика Фу и индексы суммы квадратов отклонений ( $SSD$ ) были использованы для проверки теста отклонения от нейтральности [53].

Генеалогические связи гаплотипов анализировали методом Median Joining (MJ) в программе NETWORK ver. 4.6.1.2 [54], кодируя каждую делецию или вставку, независимо от их размера, как единичное мутационное событие. Филогенетический анализ последовательностей проводили с помощью программы MrBayes ver. 3.2.3 [55] с *Alnus incana* (L.) Moench и *Ostria rehderiana* Chun в качестве внешней группы. Полные последовательности хлоропластных геномов этих видов были взяты из GenBank (номера KT454094.1 и FJ011870.1). Кодирование мутаций было 0 и 1. Тест на филогеографическую структуру проводили в программе PERMUT v1.0 (<http://www.pierroton.inra.fr/genetics/labo/Software/>) [56]. С помощью этой программы при 1000 пермутаций были получены два показателя популяционной дифференциации ( $G_{ST}$ ,  $N_{ST}$ ), которые затем сравнивались друг с другом.



**Рис. 1.** Географическое положение изученных популяций *A. alnobetula* в Евразии (номера популяций 1–20 см. в табл. 1) и распределение частот гаплотипов хпДНК (Г1–Г9). Карта Приморья и Сахалина вынесена отдельно в увеличенном масштабе.

Пространственный анализ молекулярной изменчивости (SAMOVA v1.) [57] был использован для идентификации популяционных кластеров. Программа использует метод случайного подбора для определения групп популяций, которые однородны генетически и при этом максимально дифференцированы друг от друга.

Морфологические признаки изучали на гербарных образцах ольхи, собранных нами в природных популяциях, а также в гербарных коллекциях Ботанического сада-института ДВО РАН (VBGI), Биолого-почвенного института ДВО РАН (VLA), и по образцам из электронных гербарных каталогов [58, 59].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Длины выравненных матриц регионов *psaA-trnS*, *trnH-psbA* и *trnS-trnG*, включая индели, составили 228, 539 и 755 пн соответственно. Общая длина объединенных последовательностей трех регионов хпДНК – 1524 пн. В первых двух регионах выявлено лишь по одной точечной мутации (табл. 2). В популяциях Приморья и Сахалина во фрагменте *psaA-trnS* обнаружили замену нуклеотида Т на G (гаплотипы Г7 и Г8). Во фрагменте *trnH-psbA* в популяции с Чукотки произошла замена нуклеотида С на А (гаплотип Г5). Межгенный спейсер *trnS-trnG* оказался более изменчивым. В последо-

вательностях данного региона выявлено 10 полиморфных сайтов, которые возникли путем инсерций, делеций и точечных мутаций.

В результате комбинации полиморфизма всех сайтов у 241 растения в 20 популяциях *A. alnobetula* выделено девять гаплотипов. При этом почти все они обнаружены у наиболее восточных популяций – устье р. Яна (Якутия), Чукотка, Магаданская область, Приморье и о-в Сахалин. На всей остальной территории от Урала до Верхоянского хребта в популяциях ольхи фиксирован единственный гаплотип Г1. В районе Якутска он замещается гаплотипом Г2, отличающимся от Г1 лишь делецией одного нуклеотида в микросателлите. Для всех популяций *A. alnobetula* характерны низкие значения параметров внутривидовой изменчивости. В большинстве популяций (85%) фиксирован единственный гаплотип хпДНК. Только в трех популяциях оказалось по два разных гаплотипа. Две из них находятся на Сахалине, одна – в Приморье (р. Амгу) (табл. 1, рис. 1). Распределение частот гаплотипов во всех исследованных популяциях неслучайно и показывает ярко выраженную филогеографическую структуру. Анализ AMOVA для всех популяций показал  $F_{ST} = 0.94$ . Уровень  $N_{ST}$  (0.928) выше, чем  $G_{ST}$  (0.914;  $p < 0.05$ ). При этом основной вклад в

Таблица 1. Популяции ольхи зеленой и изменчивость фрагментов хпДНК

Номер популяции	Популяция	Координаты		Высота над ур. моря, м	n	N	Частоты гаплотипов (%)	$H_e$	$\pi$
		с.ш.	в.д.						
1	Ивдель	60°42'	60°26'	81	7	1	Г1(100)	0	0
2	Ямал	66°39'	66°24'	27	25	1	Г1(100)	0	0
3	р. Таз	63°13'	64°20'	19	5	1	Г1(100)	0	0
4	Алтай	51°46'	87°17'	505	29	1	Г1(100)	0	0
5	р. Томь	53°40'	88°19'	240	8	1	Г1(100)	0	0
6	Байкал	52°59'	108°17'	486	18	1	Г1(100)	0	0
7	Якутск	62°3'	129°33'	103	4	1	Г2(100)	0	0
8	Магадан	59°35'	150°04'	118	22	1	Г3(100)	0	0
9	р. Яна	71°27'	136°10'	15	13	1	Г4(100)	0	0
10	Чукотка	62°32'	179°07'	12	28	1	Г5(100)	0	0
11	р. Амгу	45°51'	137°41'	10	9	2	Г6(22), Г7(78)	0.065 ± 0.058	0.0021 ± 0.001
12	гора Абрек	45°05'	136°43'	323	4	1	Г7(100)	0	0
13	Лазо	43°01'	134°08'	25	4	1	Г7(100)	0	0
14	Хасан	43°24'	131°29'	509	4	1	Г8(100)	0	0
15	Магросово	49°28'	142°51'	157	10	1	Г7(100)	0	0
16	Гастелло	49°06'	142°57'	38	11	2	Г4(36), Г7(64)	0.170 ± 0.116	0.0078 ± 0.004
17	Макаров	48°38'	142°46'	36	16	1	Г7(100)	0	0
18	Лопатино	48°23'	142°15'	213	11	2	Г7(45), Г9(55)	0.136 ± 0.098	0.0029 ± 0.002
19	Жданко	48°06'	142°30'	300	6	1	Г6(100)	0	0
20	Сокол	47°4'	142°45'	17	7	1	Г6(100)	0	0

Примечание.  $n$  – число изученных образцов,  $N$  – число гаплотипов,  $H_e$  – разнообразие гаплотипов,  $\pi$  – нуклеотидное разнообразие.

дифференциации вносят дальневосточные популяции. Значение  $F_{ST}$ , вычисленное отдельно для этих популяций, также очень высоко – 0.90.

Филогенетическое дерево (рис. 2,а) делит все популяции на несколько клад. Одна клада с высокой бутстреп-поддержкой (0.83) включает гаплотипы Г1 и Г2, распространенные на основной части ареала (Сибирь и Урал). Назовем ее “сибирской” группой. Другая клада содержит гаплотипы Приморья и Сахалина, она имеет небольшую бутстреп-поддержку (0.51), но внутри клада делится еще на две с высокими поддержками. Клады с единственным гаплотипом – это Г3, характерный для популяции Магадана, Г4 – для устья р. Яна и Г5 – для Чукотки.

Для выявления генеалогических связей между гаплотипами популяций методом MJ в программе NETWORK построена сеть, в которой выделяются две эволюционные линии, отстоящие друг от друга на два мутационных шага (рис. 2,б). Эти линии соответствуюткладам, полученным в филоге-

нетическом анализе. “Сибирская” линия, состоящая из Г1 и Г2, является базальной по отношению к внешней группе, а все остальные гаплотипы “дальневосточной” линии являются производными от нее.

При использовании программы SAMOVA, которая делит все популяции по частотам гаплотипов на группы в зависимости от географического положения, значение  $F_{ST}$  (0.86) достигает плато при числе групп, равном пяти: I группа – Магаданская область, II – окрестности устья р. Яна и п-ов Чукотка, III – Урал, Сибирь, IV – Приморье и центральная часть о-ва Сахалин, V – южная часть о-ва Сахалин.

Анализ пространственной экспансии, проведенный для этих групп, не дает определенной картины.  $F_S$ -статистика Фу, хотя и имеет отрицательное значение для III группы в отличие от остальных SAMOVA групп, но значение это невелико (–0.65) и статистически незначимо ( $p = 0.137$ ).

**Таблица 2.** Распределение полиморфных сайтов и ленточного полиморфизма в сиквенсах, идентифицирующее девять гаплотипов (Г1–Г9)

Гаплотип	<i>trnS-trnG</i>										<i>psaA-trnS</i>	<i>trnH-psbA</i>
	Позиция нуклеотида											
	107	124	128	139	165	319	428	457	464	482	169	380
1	a	—	—	—	—	—	A	—	—	A	T	C
2	a	—	—	—	—	—	A	—	—	—	T	C
3	a	b	c	d	—	—	C	—	A	A	T	C
4	a	b	c	—	—	—	A	—	—	A	T	C
5	a	b	c	—	—	—	A	—	—	A	T	A
6	—	—	c	—	—	—	A	f	A	A	T	C
7	—	—	c	—	—	—	A	—	A	A	G	C
8	—	b	c	—	—	—	A	—	A	A	G	C
9	—	—	c	—	e	A	A	—	A	A	T	C

a – АТТТТАТТАТАТАТТТ; b – АТТТ; c – АГТАТАТАТТТ; d – ТАТТ; e – ТТААТА; f – ТААААА.

При изучении морфологических признаков (размера, формы листовой пластинки, формы ее основания, верхушки и края, а также длины черешка листа и размера крыльев у орешков) ольхи зеленой на азиатской части российского ареала мы приходим к выводу, что все эти признаки весьма вариабельны и более или менее достоверные различия между изученными группами установить сложно. Особенно изменчив размер листовой пластинки [43]. При изучении гербарных образцов нами замечено, что в разных частях ареала ольхи зеленой на Дальнем Востоке растения с более крупными листьями приурочены к верховьям водотоков и морским побережьям, а растения с самыми мелкими листьями встречаются в тундровых сообществах, независимо от широты местности. Однако при изучении формы листовой пластинки ольхи зеленой мы все же нашли некоторые различия как между двумя выделенными генетическими группами – сибирской и дальневосточной, так и внутри дальневосточной группы (табл. 3, рис. 3). Так, в сибирской группе форма листовой пластинки яйцевидная, основание листа чаще округлое или клиновидное, иногда слабо сердцевидное, часто неравнобокое, верхушка листа постепенно суженная, край листа неравномерно зубчатый; черешки не более 2 см длиной. У дальневосточных экземпляров морфологические признаки листа сильно изменчивы, но чаще форма листовой пластинки овальная или широкояйцевидная, основание округлое или сердцевидное, редко клиновидное, верхушка резко суженная, край мелкозубчатый или пильчатый, иногда выемчатый; черешки до 3–4 см длиной.

В ботанической литературе принято, что растения с овальными или эллиптическими листьями, с округлым основанием, мелкозубчатым краем и черешками менее 2 см – это *A. mandshurica*,

произрастающая в Приморском крае, Северо-Восточном Китае, Корее [26, 36, 60–63].

Образцы с широко- или округло-яйцевидными листьями с неравнобоким, широкоокруглым или слегка сердцевидным основанием, мелкопильчатым краем и длинными черешками (до 3 см), преимущественно из прибрежных районов обитания, относят к *A. maximowiczii* и указывают для Приморского края, юга Хабаровского края, Сахалина, Шантарских и Курильских островов, Северной Кореи и Японии (Хоккайдо и Хонсю) [26, 36, 60, 61, 63–66]. Для образцов, относимых к *A. maximowiczii*, характерным признаком является длина черешков более 2 см. При просмотре гербарных материалов нами были отмечены экземпляры с Южных Курил – Итуруп и Кунашир, у которых длина черешка достигала 4 см. У этих же образцов наблюдали самые крупные женские сережки, образующие плоды шириной 13–15 и длиной 17–25 мм.

Растения с овальными или яйцевидными листьями с округлым, сердцевидным, чаще неравнобоким основанием, с мелкоострозубчатым, чаще выемчато-волнистым краем и черешками 1–2 см были описаны как *A. kamtschatica* и приводятся для Охотского побережья, юга Чукотки, Камчатки, Северного Сахалина и Северных Курил [26, 36, 60]. Характерным признаком для этого вида является выемчато-волнистый край листа и мелкие вытянутые зубцы, придающие бахромчатость краю листовой пластинки.

После изучения морфологических признаков азиатских разновидностей ольхи зеленой Е.В. Банаев и Р.В. Адельшин [40] пришли к выводу, что все “эти формы полностью поглощаются размахом изменчивости *A. fruticosa*” и им нельзя присвоить какой-либо таксономический статус. Мы считаем, что в случае таких полиморфных видов

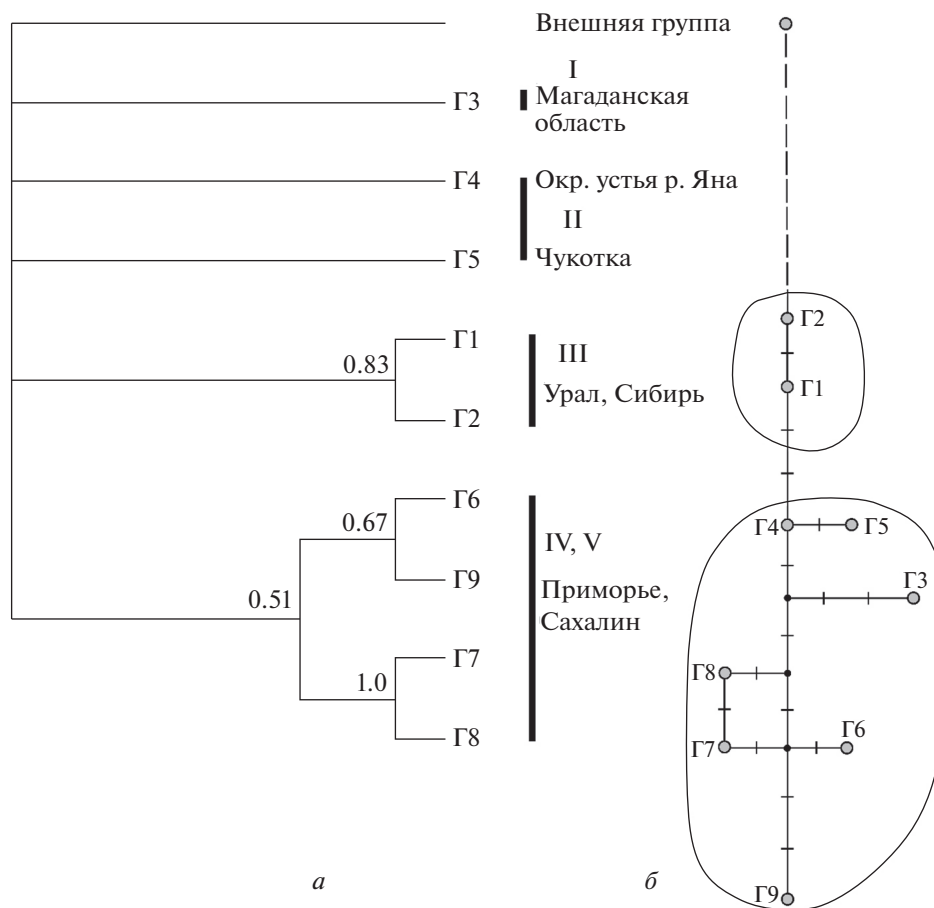


Рис. 2. Филогенетическое дерево (а) и сеть NETWORK (б), основанные на девяти гаплотипах хпДНК *A. alnobetula* в Азии с *Alnus incana* и *Ostria rehderiana* в качестве внешней группы. Римскими цифрами обозначены SAMOVA группы.

следует оперировать не абсолютными значениями, а процентом преобладания того или иного признака.

Исходя из этого, можно предположить, что гаплотип 7, общий для большинства популяций из Приморья и Центрального Сахалина, соответствует *A. mandshurica* (= *A. alnobetula* subsp. *mandschurica*), показанному для Приморского края, но ранее не приводимому для Сахалина. Анализ гербарных образцов вполне подтверждает это предположение, так как многие образцы ольхи зеленой с Приморского края и центральной части о-ва Сахалин сходны (рис. 3).

Гаплотип 6, отмеченный в популяции из окрестностей р. Амгу в Приморском крае и преобладающий в южной части о-ва Сахалин, может быть соотнесен с *A. maximowiczii* (= *A. alnobetula* subsp. *maximowiczii*), который, возможно, распространен преимущественно на юге Сахалина, Южных Курил и в Японии, а в Приморском крае встречается только вдоль побережья на севере.

Нами выявлено своеобразие генетической структуры популяций *A. alnobetula* из окрестно-

стей устья р. Яна, с п-ова Чукотка и из Магаданской области. Очевидно, они ведут свое происхождение из разных рефугиумов на территории Берингии. Недаром по морфологическим признакам эти формы выделяли в отдельный вид *A. kamtschatica* [26], который близок по морфологии листа (выемчато-волнистый край) к североамериканскому *Alnus sinuata*. В.Н. Ворошилов [64] рассматривал такие образцы в качестве подвида *A. crispa* subsp. *sinuata*. Мы предлагаем новую номенклатурную комбинацию для камчатского подвида ольхи зеленой: *Alnus alnobetula* subsp. *kamtschatica* (Regel) Pimenova comb. n. (Basionym: *Alnus viridis* (Chaix) DC. [infras. unranked] *kamtschatica* Regel, Monogr. Betul. 81. 1861; alt. title: Nouv. Mém. Soc. Imp. Naturalistes Moscou 13: 139. Apr–May 1861.)

Однако один из характерных признаков *A. kamtschatica* (выемчато-волнистый край листа) при изучении гербарных коллекций наблюдался и у образцов с Приморского края, Южного Сахалина и Курил. Связь этой группы с более южными популяциями Приморья и о-ва Сахалин обнаружена и при изучении гаплотипов, что свидетель-

**Таблица 3.** Морфологические признаки листа *Alnus alnobetula*, имеющие диагностическое значение для выделения разных таксонов

Таксон	Характеристики листа				
	форма	основание	верхушка	край	длина черешка, см
<i>A. alnobetula</i> subsp. <i>fruticosa</i>	Яйцевидная или широкояйцевидная	Чаще клиновидное, неравнобокое, иногда округлое или слабо сердцевидное	Постепенно сужена	Неравномерно зубчатый	До 2
<i>A. alnobetula</i> subsp. <i>mandschurica</i>	Овальная или эллиптическая	Округлое	Резко сужена	Мелкозубчатый	До 2
<i>A. alnobetula</i> subsp. <i>maximowiczii</i>	Широко- или округло-яйцевидная	Широкоокруглое, сердцевидное, неравнобокое	Резко сужена	Неравномерно мелкопильчатый	До 3–4
<i>A. alnobetula</i> subsp. <i>kamtschatica</i>	Овальная или яйцевидная	Округлое или сердцевидное, чаще неравнобокое	Резко или сглаженно сужена	Мелко-острозубчатый, чаще выемчато-волнистый	1–2

ствуется об их общности. Гаплотип 4, характерный для популяции из окрестностей устья р. Яна, встречается также и в центральной части о-ва Сахалин. Для получения ответа на вопрос о статусе изученных популяций необходимы дополнительные морфологические и генетические исследования ольхи зеленой на этой части ареала.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение изменчивости хпДНК у ольхи зеленой на территории Азиатской России выявило две эволюционные линии: “сибирскую” линию, широко распространенную на Урале и в Сибири и соответствующую *A. alnobetula* subsp. *fruticosa*, и “дальневосточную”, находящуюся за Верхоянским хребтом (северо-восток Сибири, Приморье, о-в Сахалин) и состоящую из нескольких дивергентных генетических групп, которым соответствуют несколько подвидов. Большинство выявленных гаплотипов хпДНК находятся в дальневосточных популяциях ольхи зеленой. В сибирской линии этого вида доминирует один гаплотип Г1. Отсутствие общих гаплотипов хпДНК между этими линиями свидетельствует об ограниченном генетическом обмене между ними в течение длительного времени. Базальное положение Г1 в сети NETWORK относительно внешней группы позволяет предположить, что расселение вида в прошлом шло с запада на восток с последующей изоляцией популяций ольхи зеленой в различных свободных ото льда регионах на дальневосточном ареале.

Подобный характер распределения гаплотипов был получен и для лиственницы. Это позволило авторам предположить, что этот вид сохранялся в течение ПЛМ на побережье Охотского мо-

ря, на Камчатке, в Приморье и на Сахалине. Верхоянский хребет в прошлом представлял собой барьер для потока генов, определивший генетическую обособленность лиственниц северо-востока Азии и самостоятельный видовой статус восточной расы даурской лиственницы — *Larix cajanderi* [14].

Известно, что на северо-востоке Сибири, в отличие от Европы, в ПЛМ не были развиты покровные ледники, и оледенение было здесь преимущественно горно-долинным. Для многих видов Берингия, включающая и северо-восток Азии, была древним рефугиумом, изолированным от остальной территории Верхоянским хребтом [20]. Предполагают, что там был распространен перигляциально-тундровый тип растительности [67]. Данные по растительным и пыльцевым остаткам подтверждают, что современная бореальная растительность, возможно, выживала в изолированных рефугиумах на территории Берингии, например вдоль осушенного шельфа на побережье Охотского моря [30, 68, 69].

По палеогеографическим реконструкциям в сартанское время оледенение отсутствовало на юге Дальнего Востока и близлежащих островах [70]. Бореальный тип растительности реконструируется в Маньчжурии, в северной части Японии и на Сахалине, который соединялся с континентом участком осушенного шельфа [71, 72]. Именно здесь, в южной части Дальнего Востока — в Приморье и на Сахалине, у ольхи зеленой оказалась наибольшее внутривидовое разнообразие (рис. 1, табл. 1), хотя и небольшое по сравнению с другими древесными видами. Только на Сахалине выявлены четыре гаплотипа, причем два из них общие с Приморьем, третий — общий с



арктической популяцией (устье р. Яна), четвертый нигде больше не встречается. Слияние в течение плейстоцена северной части Сахалина с материком [73] может объяснять общность гаплотипов Приморья и Сахалина. Возможно, эти популяции имеют общее происхождение с популяциями Курильских островов или Японии, но из-за отсутствия выборок оттуда мы можем это только предполагать. Однако изученные гербарные образцы с этих территорий вполне подтверждают, что образцы, наиболее полно соответствующие описанному *A. maximowiczii*, встречаются только на юге Сахалина, островах Итуруп и Кунашир Курильской гряды, а также на Хоккайдо. Указание *A. maximowiczii* для Охотского побережья, севера Сахалина и Северных Курил мы считаем необоснованным.

Примеры общности происхождения популяций Южного Сахалина, Курил и Японии есть для других древесных видов. Например, популяции лиственницы с Южного Сахалина обнаруживают родственные связи с *Larix kaempferi*, произрастающей на о-ве Хонсю (Япония), указывая на возможность генетического обмена между ними в прошлом [14].

У ольхи зеленой уровень морфологической дивергенции не соответствует уровню ее молекулярной дивергенции. Виды, принадлежащие к разным генетическим линиям, сложно различаются морфологически и не имеют четко обособленных признаков. Однако именно на Дальнем Востоке только на основании морфологических признаков было описано наибольшее число видов рода *Alnus* (ряд из которых в современной таксономии рассматривается в качестве подвидов *Alnus alnobetula*), что в настоящей работе подтверждается и разнообразием гаплотипов. Основываясь на литературных данных, гербарных материалах и собственных результатах, с большей или меньшей достоверностью можно признать такие подвиды, как *A. alnobetula* subsp. *maximowiczii* для южной части о-ва Сахалин, Южных Курильских островов, прибрежной части севера Приморского края (за пределами России — о-в Хоккайдо, Япония), *A. alnobetula* subsp. *mandschurica* для Приморского края и центральной части (возможно, и северной) о-ва Сахалин (а также Северо-Восточный Китай, Корея) и *A. alnobetula* subsp. *fruticosa* для всей группы, названной нами сибирской. Что касается популяций из Магаданской области, севера Якутии (р. Яна) и Чукотки, то вполне возможно их отнести к *Alnus alnobetula* subsp. *kamtschatica* с переходными признаками на западе к *A. alnobetula* subsp. *fruticosa*, а на северо-востоке — к североамериканскому *A. alnobetula* subsp. *sinuata*. Морфологические различия для выделенных таксонов более четко прослеживаются в центре ареалов и практически не работают на их границах.

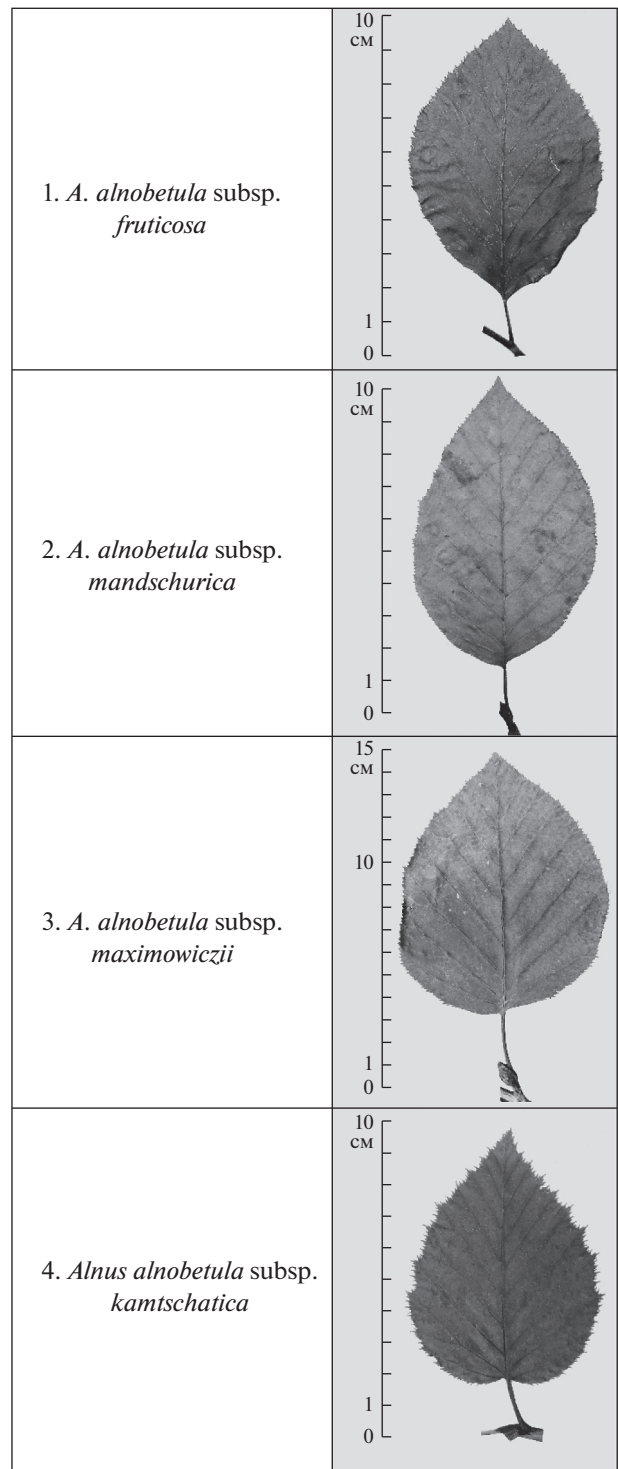


Рис. 3. Наиболее типичные по морфологическим признакам листья азиатских подвидов *A. alnobetula* (изображения листьев приводятся по гербарным образцам из коллекции VGBI, хранящимся под инвентарными номерами: 1–4 — 138163, 20934, 5895, 5913 соответственно).

В работе J. Furlow [74], посвященной североамериканским видам ольхи зеленой, которые также очень сходны морфологически, делается вывод о конвергентном сходстве таких видов, образование которых происходило в одинаковых экологических условиях. Вполне вероятно, что этот вывод можно применить и в отношении азиатских таксонов.

Авторы выражают благодарность А.Ю. Беляеву, А.Н. Беркутенко, Я. Кижеватову, Д. Кривенко, А.Н. Николаеву, М. Пермяковой, В.Л. Семеринову, В. Соколову, О.А. Чернягиной за помощь в сборе материала, а также к. б. н. С.В. Прокопенко и д. б. н. В.Ю. Баркалову (БПИ ДВО РАН) за консультации и помощь при работе с гербарием.

Работа выполнена при поддержке Комплексной программы Уральского отделения РАН (проект № 15-12-4-29), РФФИ (грант № 15-29-02429) и Программы поддержки развития биоресурсных коллекций ФАНО.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Криштофович А.Н. Основные черты развития третичной флоры Азии // Изв. Гл. бот. сада. 1930. Т. 29. № 3–4. С. 391–401.
2. Лавренко Е.М. История флоры и растительности СССР по данным современного распространения растений // Растительность СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1938. Т. 1. С. 235–296.
3. Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages // Nature. 2000. V. 405. P. 907–913.
4. Abbott R.J., Smith L.C., Milne R.I. et al. Molecular analysis of plant migration and refugia in the Arctic // Science. 2000. V. 289. I. 5483. P. 1343–1346.
5. Demesure B., Comps B., Petit R.J. Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe // Evolution. 1996. V. 50. I. 6. P. 2515–2520.
6. Dumolin-Lapegue S., Demesure B., Fineschi S. et al. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent // Genetics. 1997. V. 146. I. 4. P. 1475–1487.
7. King R.A., Ferris C. Chloroplast DNA phylogeography of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // Mol. Ecology. 1998. V. 7. P. 1151–1161.
8. King R.A., Ferris C. Chloroplast DNA and nuclear DNA variation in the sympatric alder species, *Alnus cordata* (Lois.) Duby and *A. glutinosa* (L.) Gaertn. // Biol. J. Linnean Society. 2000. V. 70. I. 1. P. 147–160.
9. Havrdova A., Douda J., Krak K. et al. Higher genetic diversity in recolonized areas than in refugia of *Alnus glutinosa* triggered by continent-wide lineage admixture // Mol. Ecology. 2015. V. 24. I. 18. P. 4759–4777.
10. Petit R.J., Aguinagalde I., de Beaulieu J.L. et al. Glacial refugia: hotspot but not melting pots of genetic diversity // Science. 2003. V. 300. P. 1563–1565.
11. Dering M., Latałowa M., Boratyńska K. et al. Could clonality contribute to the northern survival of grey alder [*Alnus incana* (L.) Moench] during the Last Glacial Maximum? // Soc. Acta Societatis Botan. Poloniae. 2017. V. 86(1):3523. doi 10.5586/asbp.3523
12. Mandak B., Havrdova A., Krak K. et al. Recent similarity in distribution ranges does not mean a similar post-glacial history: a phylogeographical study of the boreal tree species *Alnus incana* based on microsatellite and chloroplast DNA variation // New Phytologist. 2016. V. 210. I. 4. P. 1395–1407.
13. Semerikov V.L., Semerikova S.A., Polezhaeva M.A. 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. Ecology. 2013. V. 22. I. 19. P. 4958–4971.
14. Polezhaeva M.A., Lascoux M., Semerikov V.L. Cytoplasmic DNA variation and biogeography of *Larix* Mill. in Northeast Asia // Mol. Ecology. 2010. V. 19. P. 1239–1252.
15. 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. Ecology. 2008. V. 17. P. 4134–4150.
16. Maliouchenko O., Palme A.E., Buonamici A. et al. Comparative phylogeography and population structure of European *Betula* species, with particular focus on *B. pendula* and *B. pubescens* // J. Biogeography. 2007. V. 34. I. 9. P. 1601–1610. doi 10.1111/j.13653-2699.2007.01729.x
17. Palme A.E., Semerikov V., Lascoux M. Absence of geographical structure of chloroplast DNA variation in willow, *Salix caprea* L. // Heredity. 2003. V. 91. I. 5. P. 465–474.
18. Skrede I., Eidesen P.B., Piñeiro Portela R., Brochmann C. Refugia, differentiation and postglacial migration in arctic-alpine Eurasia, exemplified by the mountain avens (*Dryas octopetala* L.) // Mol. Ecology. 2006. V. 15. P. 1827–1840.
19. Eidesen P.B., Alsos I.G., Popp M. et al. Nuclear vs. plastid data: complex Pleistocene history of a circumpolar key species // Mol. Ecology. 2007. V. 16. P. 3902–3925.
20. Eidesen P.B., Ehrlich D., Bakkestuen V. et al. Genetic roadmap of the arctic: Plant dispersal highways, traffic barriers and capitals of diversity // New Phytologist. 2013. V. 200. P. 898–910.
21. Hantemirova E.V., Heinze B., Knyazeva S.G. et al. A new Eurasian phylogeographical paradigm? Limited contribution of southern populations of the recolonization of high latitude populations in *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) // J. Biogeography. 2017. V. 44. I. 2. P. 271–282. doi 10.1111/jbi.12867
22. The Plant List. URL: <http://www.theplantlist.org/>.
23. The International Plant Name Index. URL: <http://www.ipni.org/>.
24. Greuter W. & Raab-Straube (ed.) Euro + Med Notulae, 5 // Willdenowia. 2011. V. 41. P. 129–138.
25. Chery J. New nomenclature combinations in the green alder species complex (Betulaceae) // PhytoKeys. 2015. V. 56. P. 1–6.
26. Комаров В.Л. Род 365. Ольха — *Alnus* Gaertn. // Флора СССР. Т. 5. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1936. С. 306–319.

27. *Myking T.* Evaluating genetic resources of forest trees by means of life history traits – a Norwegian example // *Biodiversity and Conservation*. 2002. V. 11. P. 1681–1696.
28. *Bennett K.D., Boreham S., Sharp M.J. et al.* Holocene history of environment, vegetation and human settlement on Catta Ness, Lunnasting, Shetland // *J. Ecology*. 1992. V. 80. P. 241–273.
29. *Gajewski K., Payette S., Ritchie J.C.* Holocene vegetation history at the boreal-forest – shrub-tundra transition in north-western Quebec // *J. Ecology*. 1993. V. 81. I. 3. P. 433–443. doi 10.2307/2261522
30. *Brubaker L.B., Anderson P.M., Edwards M.E.* Beringia as a glacial refugium for boreal trees and shrubs: new perspectives from mapped pollen data // *J. Biogeography*. 2005. V. 32. P. 833–848.
31. *Müller S., Tarasov P.E., Andreev A.A. et al.* Late Quaternary vegetation and environments in the Verkhoyansk Mountains region (NE Asia) reconstructed from a 50-kyr fossil pollen record from Lake Billyakh // *Quaternary Sci. Rev.* 2010. V. 29. P. 2071–2086.
32. *Sturm M., Racine C., Tape K.* Climate change: Increasing shrub abundance in the Arctic // *Nature*. 2001. V. 411. P. 546–547.
33. *Tape K.D., Hallinger M., Welker J.M. et al.* Landscape heterogeneity of shrub expansion in Arctic Alaska // *Ecosystems*. 2012. V. 15. I. 5. P. 711–724.
34. *Wiedmer E., Senn-Irlet B.* Biomass and primary productivity of an *Alnus viridis* stand – a case study from the Schachtal valley, Switzerland // *Bot. Helvetica*. 2006. V. 116. I. 1. P. 55–64.
35. *Buehlmann T., Hiltbrunner E., Koerner C.* *Alnus viridis* expansion contributes to excess reactive nitrogen release, reduces biodiversity and constrains forest succession in the Alps // *Alpine Botany*. 2014. V. 124. I. 2. P. 187–191.
36. *Черепанов С.К.* Система рода *Alnus* Mill. s. str. и близких к нему родов // *Ботан. материалы Гербария БИН им. В.Л. Комарова АН СССР*. М.; Л., 1955. Т. XVII. С. 90–105.
37. *Черепанов С.К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб.: Мир и семья, 1995. 990 с.
38. *Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н.* Древесные растения Азиатской России. Новосибирск: Изд-во СО РАН, фил. “Гео”, 2002. 708 с.
39. *Hultén E.* Flora of Kamtchatka and the Adjacent Islands. Stockholm, 1927.
40. *Банаев Е.В., Адельшин Р.В.* Структура *Alnus fruticosa* Rupr. s. l. и его взаимоотношение с другими таксонами подрода *Alnobetula* (Ehrhart) Peterman // *Сиб. экол. журн.* 2009. № 6. С. 927–939.
41. *Chen Z.D., Li J.H.* Phylogenetics and biogeography of *Alnus* (Betulaceae) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA its region // *Intern. J. Plant Sci.* 2004. V. 165. I. 2. P. 325–335.
42. *Ren B., Xiang X., Chen Z.* Species identification of *Alnus* (Betulaceae) using nrDNA and cpDNA genetic markers // *Mol. Ecology Resources*. 2010. V. 10. P. 594–605.
43. *Банаев Е.В.* Род *Alnus* Mill. (Betulaceae) в Азиатской России: популяционная структура видов и сохранение генофонда: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Томск, 2010. 32 с.
44. *Devey M.E., Bell J.S., Smith D.N. et al.* A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // *Theor. Appl. Genetics*. 1996. V. 92. P. 673–679.
45. *Hamilton M.B.* Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation // *Mol. Ecology*. 1999. V. 8. P. 521–523.
46. *Demesure B., Sodzi N., Petit R.J.* A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants // *Mol. Ecology*. 1995. V. 4. P. 129–131.
47. *Taberlet P.T., Geilly L., Patou G., Bouvet J.* Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // *Plant Mol. Biology*. 1991. V. 17. P. 1105–1109.
48. *Dumolin-Lapegue S., Pemonge M.-H., Petit R.J.* An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants // *Mol. Ecology*. 1997. V. 6. P. 393–397.
49. *Shaw J., Lickey E.B., Beck J.T. et al.* The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis // *Am. J. Botany*. 2005. V. 92. P. 142–166.
50. *Grivet D., Heinze B., Vendramin G.G., Petit R.J.* Genome walking with consensus primers: application to the large single copy region of chloroplast DNA // *Mol. Ecology Notes*. 2001. V. 1(4). P. 345–349.
51. *Hall T.A.* Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acid Symp. Series*. 1999. V. 41. P. 95–98.
52. *Excoffier L., Lischer H.* Arlequin suite ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // *Mol. Ecology Resources*. 2010. V. 10. P. 564–567.
53. *Rogest A.R., Harpending H.* Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences // *Mol. Biology and Evolution*. 1992. V. 9. P. 552–569.
54. *Bandelt H.J., Forster P., Röhl A.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biology and Evolution*. 1999. V. 16. P. 37–48.
55. *Huelsenbeck J.P., Ronquist F.* MrBayes: Bayesian inference of phylogeny // *Bioinformatics*. 2001. V. 17. P. 754–755.
56. *Pons O., Petit R.J.* Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles // *Genetics*. 1996. V. 144. P. 1237–1245.
57. *Dupanloup I., Schneider S., Excoffier L.* A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations // *Mol. Ecology*. 2002. V. 11. P. 2571–2581.
58. Гербарий им. Д.П. Сырейщикова биологического факультета МГУ. URL: <http://www.bio.msu.ru/doc/index.php?ID=146>.
59. Nature Korea Biodiversity Information System. URL: <http://nature.go.kr/ekbi/plant/smpl/selectPlantSmpl-GnrlSrch1.do>.
60. *Воробьев Д.П., Ворошилов В.Н., Горовой П.Г., Шретер А.И.* Определитель растений Приморья и Приморья. М.; Л.: Наука, 1966. 491 с.

61. Lee T.B. Illustrated Flora of Korea. Seoul: Hyangmun Co., 1980. (in Korean).
62. Li P., Skvortsov A.K. Betulaceae // Flora of China. V. 4 / Eds Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Science Press, Beijing; Missouri Bot. Garden Press, St. Louis, 1999. P. 286–313.
63. Ohba H. *Alnus* // Flora of Japan. V. 2a. Angiospermae, Dicotyledoneae, Archichlamydeae(a). Kodansha, Tokyo, 2006. P. 26–31.
64. Ворошилов В.Н. Определитель растений советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1982. 672 с.
65. Недолужко В.А., Скворцов А.К. Сем. 48. Березовые – Betulaceae S. F. Gray // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 8. СПб.: Наука, 1996. С. 9–28.
66. Chang C.-S., Kim H., Chang K.S. Provisional Checklist of Vascular Plants for the Korea Peninsula Flora (KPF) (Version 1.0). 2014. 660 p.
67. Гричук В.П., Борисова О.К. Растительный покров: поздний плейстоцен // Палеоклиматы и палеоландшафты внетропического пространства Северного полушария: поздний плейстоцен-голоцен: атлас-монография. М.: ГЕОС, 2009. С. 70–78.
68. Ложкин А.В. Современный пылевой дождь в арктических районах Берингии и реконструкция растительности ледниковых интервалов плейстоцена // Четвертичная палеогеография Берингии. Магадан: СВКНИИ, 2002. С. 13–27.
69. Abbott R.J., Brochmann C. History and evolution of the arctic flora: in the footsteps of Eric Hultén // Mol. Ecology. 2003. V. 11. P. 299–313.
70. Короткий А.М., Волков В.Г., Гребенникова Т.А. и др. Дальний Восток // Изменение климата и ландшафтов за последние 65 миллионов лет: кайнозой (от палеоцена до голоцена). М.: ГЕОС, 1999. С. 146–164.
71. Александрова А.Н. Плейстоцен Сахалина. М.: Наука, 1982. 192 с.
72. Крестов П.В., Баркалов В.Ю., Таран А.А. Ботанико-географическое районирование острова Сахалин // Растительный и животный мир острова Сахалин: Материалы междунар. Сахалинского проекта. Владивосток: Дальнаука, 2004. Ч. 1. С. 67–92.
73. Плетнев С.П. Геологическое развитие острова Сахалин // Флора и фауна острова Сахалин. Владивосток, 2004. С. 11–23.
74. Furlow J.J. The systematic of American species of *Alnus* (Betulaceae) // Rhodora. 1979. V. 81. № 825. P. 1–69.

## Polymorphism of Chloroplast DNA and Phylogeography of Green Alder (*Alnus alnobetula* (Ehrh.) K. Koch s. l.) in Asiatic Russia

E. V. Hantemirova<sup>a, \*</sup>, E. A. Pimenova<sup>b, \*\*</sup>, and O. S. Korchagina<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia

<sup>b</sup>Botanical Garden Institute, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690024 Russia

\*e-mail: hantemirova@ipae.uran.ru

\*\*e-mail: pimenova@botsad.ru

This paper studies the phylogeography of *Alnus alnobetula* s. l. in the Asian part of the Russian range with the use of chloroplast DNA (cpDNA) sequences (intergenic spacers *trnH-psbA*, *trnS-trnG*, and *psaA-trnS*). Nine haplotypes were identified as a result of a combination of polymorphism of all sites in 241 plants in 20 populations of *A. alnobetula*. High interpopulation differentiation ( $G_{ST} = 0.914$ ,  $N_{ST} = 0.928$ ) and a significant phylogeographic structure ( $N_{ST} > G_{ST}$ ,  $p < 0.05$ ) were found. Reconstruction of genealogical relationships of green alder haplotypes revealed five highly divergent genetic lineages: one geographically widespread throughout Siberia and the Urals and several allopatric lines in the Far East of Russia, namely, the Chukotka Peninsula and the mouth of the Yana River, Magadan oblast, Primorye and the central part of Sakhalin Island, and the southern part of Sakhalin Island. Our data confirm that in the past the range of this species in the Far East was fragmented in several refugia that were isolated for a long time in various ice-free regions. This could have contributed to a high level of intraspecific polymorphism of green alder as a result of the divergence of endemic haplotypes, with almost non-overlapping distribution. However, the level of their molecular divergence does not correspond to the level of morphological differences.

**Keywords:** green alder, alder, *Alnus alnobetula*, cpDNA, Far East, last glacial maximum, phylogeography.