

СОВРЕМЕННАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА *WALDSTEINIA TERNATA* (STEPH.) FRITSCH КАК ОТРАЖЕНИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЧЕТВЕРТИЧНОГО ПЕРИОДА

А.Д. Коновалов^{1,2}, В.В. Павличенко¹, Д.А. Орлова², Е.Д. Золотовская^{1,2},
М.В. Протопопова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, konovalov.alexey.d@gmail.com, vpavlichenko@gmail.com, marina.v.protopopova@gmail.com

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, orlova.daria.alexeevna@gmail.com

Аннотация. Работа направлена на исследование современной филогеографической структуры реликтового вида растений *Waldsteinia ternata* на протяжении сибирско-восточноазиатского ареала, дизъюнкция которого возникла в результате воздействия неблагоприятных факторов последних геологических эпох. Результаты молекулярно-генетического анализа свидетельствуют в пользу восточноазиатского происхождения вида, непродолжительной изоляции и возможном существовании миграционных процессов между южносибирскими популяциями.

Ключевые слова: глобальные климатические изменения, филогеография, реликтовые виды растений, рефугиум, молекулярные маркеры

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-941-943

Настоящая работа была направлена на исследование современной филогеографической структуры неморального реликтового вида растений *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch (*Rosaceae*) на протяжении его сибирско-восточноазиатского дизъюнктивного ареала. Вид трактуется, как южносибирский эндемик и первоначально описан из его основного местонахождения на северном макросклоне хр. Хамар-Дабан. В Южной Сибири *W. ternata* также известен из изолированных участков ареала в предгорьях Восточного и Западного Саянов. После протяженной дизъюнкции *W. ternata* встречается на Дальнем Востоке. Изолированность западносаянских и дальневосточных популяций от основного местонахождения в комплексе с незначительными морфологическими различиями даёт основание для их выделения в самостоятельные виды – *W. tanzybeica* N.V. Stepanov и *W. maximowicziana* (Terpner) Probat. [Пробатова, 2015]. Дизъюнкция некогда единого ареала вида наиболее вероятно возникла в периоды плейстоценовых оледенений, сопровождающихся неблагоприятными температурными условиями в сочетании с аридизацией климата. Однако в настоящее время нет единого мнения ни о направлениях распространения популяций *W. ternata* в голоцене и о вкладе миграционных процессов в формировании современной структуры вида, ни о систематическом статусе его дистальных популяций.

Поскольку применение морфолого-экологических критериев не позволяет в полной мере решить обозначенные выше вопросы, представляется необходимым привлечение современных молекулярно-генетических методов и подходов. Кроме того, без использования молекулярно-генетических методов анализа сложно судить как о длительности возникшей изоляции между популяциями *W. ternata*, так и о степени лимитированности потока генов между ними в настоящее время.

В работе проводили сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей молекулярно-генетических маркеров ITS1-ITS2, *rpl20-rps12* и *trnV*. Сбор материала осуществляли из популяций с хр. Хамар-Дабан (поймы р. Дулиха и р. Безымянная), в предгорьях Восточного Саяна (р. Белая Зима) и Приморском крае (Дальний Восток, вблизи пос. Сиреневка и Раздольное). Для анализа также были использованы образцы, собранные в предгорьях Западного (р. Большой Кебеж) и Восточного Саяна (р. Олот), хранящиеся в гербариях IRKU и IRK. ДНК выделяли из высушенных листьев с помощью СТАВ метода [Doyle, Doyle, 1987] с модификациями [Протопопова и др., 2015; 2016]. ПЦР проводили с использованием универсальных праймеров [Wang et al., 2009; Utelli, 2000]. Для определения нуклеотидной последовательности регионов ITS1-ITS2 полученные ампликоны лигировали в плазмидный вектор pTZ57R/T (Thermo Fisher Scientific) с последующей трансформацией клеток *E. coli*. Секвенирование ампликонов и плазмид проводили по методу Сэнгера с использованием набора BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v. 3.1 (Applied Biosystems, США) на генетическом анализаторе серии 3500 (Applied Biosystems, США). Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма MUSCLE, филогенетический анализ – методом максимального правдоподобия с учетом оптимальных моделей нуклеотидных замен в MEGA v. 7.0.16. Референтные последовательности были взяты из генетической базы данных GenBank.

Результаты показали наличие минимум четырех гаплотипов хлоропластного региона *rpl20-rps12*. Для приморских популяций выявлено 2 гаплотипа, которые объединялись в общий кластер. Для популяций с хр. Хамар-Дабан и Западного Саяна был характерен третий вариант гаплотипа. Для восточносаянских популяций было выявлено два гаплотипа: один – уникальный; второй – «хамар-дабанского» типа. Анализ *trnV* региона выявил 3 гаплотипа. Первый – был характерен только для приморских популяций, второй, производный от первого варианта, – для популяций с р. Безымянная (хр. Хамар-Дабан) и р. Белая Зима (Восточный Саян). Третий гаплотип – был характерен для популяций с р. Дулиха (хр. Хамар-Дабан), который является, по-видимому, производным от предыдущего гаплотипа. Сравнительный анализ региона ITS1 выявил несколько нуклеотидных вариантов, которые объединялись в отдельные кластеры на филогенетическом дереве. Первый – объединял последовательности приморских популяций («приморский» кластер); второй – популяций с хр. Хамар-Дабан, Восточного и Западного Саянов («сибирский» кластер), третий – приморской (с. Сиреневка), одной из хамар-дабанских популяций (р. Безымянная) и Западного Саяна. Кроме того, у приморских популяций обнаружено несколько переходных вариантов с «сибирским» типом последовательностей. Было также показано, что генетическая дистанция по этому региону между сибирскими и приморскими популяциями существенно ниже, чем таковая между любой из популяций и европейским близкородственным видом *W. geoides* и североамериканским *W. fragarioides*. Внутри «сибирского» кластера, было также выявлено несколько гаплотипов, характерных только для восточносаянских популяций и только для западносаянских популяций. Все эти уникальные гаплотипы являются производными от последовательностей хамар-дабанского типа.

Таким образом, несмотря на наличие четкой генетической дифференциации популяций *W. ternata*, величина генетического расстояния и наличие общих вариантов ITS1-ITS2 региона не позволяют однозначно подтвердить видовой статус приморских и западносаянских популяций. Полученные результаты также свидетельствуют в пользу гипотезы наличия дальневосточных корней у сибирских популяций. Степень выявленных отличий между популяциями с хр. Хамар-Дабан, Восточного и Западного Саянов свидетельствует в пользу их непродолжительной изоляции друг от друга и

возможном существовании миграционных процессов в течение межледниковых периодов, а также, вероятно, о «хамар-дабанском» источнике происхождения восточносибирского из западносибирского генотипов *W. ternata*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-74-10074) и грантов Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 16-34-60135 мол_а_дк, № 16-05-00783). Авторы благодарят ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН за предоставленный доступ к оборудованию и ЦКП «Биоресурсный центр» СИФИБР СО РАН за предоставленный доступ к работе с гербарием, В.В. Чепиногу за помощь в теоретическом обосновании работы, Н.С. Пробатову и Е.А. Пименову за помощь в сборе образцов из Приморского края.

Литература

Пробатова Н.С., Валидизация комбинации *Waldsteinia maximowicziana* (Turpner) Prob. (*Rosaceae*) // Новости систематики высших растений. – 2015. – № 46. – С. 237–238.

Протопопова М.В., Павличенко В.В., Гнутиков А.А., Адельшин Р.В., Чепинога В.В. Использование генетических маркеров для оценки состояния реликтовых видов растений Байкальской Сибири // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2015. – № 4. – С. 28–36.

Протопопова М.В., Павличенко В.В., Коновалов А.Д., Золотовская Е.Д., Байрамова Э.М., Чепинога В.В. Перспективы использования внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1 и ITS2) для идентификации редких видов растений на примере рода *Waldsteinia* (*Rosaceae*) // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». – 2016. – Т. 17. – С. 5–11.

Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. – 1987. – V. 19. – P. 11–15.

Utelli A., Roy B., Baltisberger M. Molecular and morphological analyses of European *Aconitum* species (*Ranunculaceae*) // Plant Systematics and Evolution. – 2000. – V. 224. – P. 195–212.

Wang L., Abbott R.J., Zheng W., Chen P., Wang Y., Liu J. History and evolution of alpine plants endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau: *Aconitum gymnandrum* (*Ranunculaceae*) // Molecular Ecology. – 2009. – V. 18, I. 4. – P. 709–21.

CURRENT PHYLOGEOGRAPHIC STRUCTURE OF *WALDSTEINIA TERNATA* (STEPH.) FRITSCH AS A REFLECTION OF QUATERNARY GLOBAL CLIMATE CHANGE

A.D. Konovalov^{1,2}, V.V. Pavlichenko¹, D.A. Orlova², E.D. Zolotovskaya^{1,2}, M.V. Protopopova¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, konovalov.alexey.d@gmail.com, vpavlichenko@gmail.com, marina.v.protopopova@gmail.com

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, orlova.daria.alexeevna@gmail.com

Abstract. The study was aimed to the identification of the current phylogeographic structure of relict plant species *Waldsteinia ternata* throughout its Siberian-East Asian range, its disjunction appeared as a result of unfavorable factors influence during the latest geological periods. The results of molecular genetic analysis evident the East Asian origin of the species, the short-term isolation and the possible migrations between the southern Siberian populations.

Keywords: global climate change, phylogeography, relict plant species, refugium, molecular markers