

Генетическое разнообразие популяций восточносибирского эндемика *Oxytropis vasskovskyi* Jurtz. (Fabaceae)

Алла Борисовна Холина^{1✉}, Елена Вячеславовна Артюкова¹,
Мария Геннадьевна Хорева², Елена Александровна Андриянова²

¹Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии
ДВО РАН, Владивосток, 690022, Российская Федерация

²Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, 685000,
Российская Федерация

✉ Автор-корреспондент, e-mail: kholina@biosoil.ru

Получена 19 августа 2024 г.; принята к публикации 1 сентября 2024 г.

Аннотация. На основе анализа нуклеотидного полиморфизма межгенных спейсеров *psbA-trnH*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хлоропластной ДНК изучены генетическое разнообразие и популяционная структура *Oxytropis vasskovskyi* Jurtz., эндемика Восточной Сибири. Популяции характеризовались средним и высоким гаплотипическим (0.524–1.000) и низким нуклеотидным (0.0003–0.0008) разнообразием. Анализ распределения изменчивости показал средний уровень дифференциации; доля генетической изменчивости между популяциями составила 44.42%. Для трех популяций *O. vasskovskyi* показано демографическое расширение. Гаплотипы пяти изученных популяций образуют в генеалогической сети единый комплекс, что обусловлено, вероятно, их общим происхождением, относительно недавней дивергенцией и неполным расхождением генеалогических линий, а также существующим обменом генами между популяциями. В четырех популяциях установлен низкий уровень нуклеотидного разнообразия и отсутствие нуклеотидных замен, что указывает на необходимость охраны этих местообитаний.

Ключевые слова: Fabaceae, *Oxytropis*, *Gloecephala*, эндемичный вид, генетическое разнообразие, популяционная структура, хлоропластная ДНК.

Genetic diversity of populations of East Siberian endemic species *Oxytropis vasskovskyi* Jurtz. (Fabaceae)

Alla B. Kholina^{1✉}, Elena V. Artyukova¹, Mariya G. Khoreva², Elena A. Andrianova²

¹Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022, Russian Federation

²Institute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch of the Russian Academy
of Sciences, Magadan, 685000, Russian Federation

✉ Corresponding author, e-mail: kholina@biosoil.ru

Received August 19, 2024; accepted September 1, 2024

Abstract. Based on nucleotide polymorphism of cpDNA intergenic spacers *psbA-trnH*, *trnL-trnF*, and *trnS-trnG*, we studied the genetic diversity and population structure of a mountain species *Oxytropis vasskovskyi* Jurtz., endemic to East Siberia. The populations were characterized by medium and high haplotype (0.524–1.000) and low nucleotide (0.0003–0.0008) diversity. Variability distribution analysis showed a moderate level of differentiation; the interpopulation component accounted for about 44% of the total genetic variation in *O. vasskovskyi*. We observed demographic expansion for three of five *O. vasskovskyi* populations. The haplotypes of the five studied populations form a single complex in the genealogical network, which is probably due to their common origin, relatively recent divergence and incomplete lineage sorting, as well as the existing gene exchange between populations. Thus, in four of the five studied populations, a low level of nucleotide diversity and the absence of nucleotide substitutions were determined, which indicates the need to use certain measures to protect all known habitats, conduct regular monitoring of their state and search for new locations of the species.

Key words: Fabaceae, *Oxytropis*, *Gloecephala*, endemic species, genetic diversity, population structure, chloroplast DNA.

Введение

Изучение эндемичных узкоареальных таксонов приобретает особую значимость в ходе сохранения биоразнообразия растений, поскольку эндемики зачастую представляют наиболее уязвимую часть региональных флор (Воронкова, Холина 2010). Многие виды *Oxytropis* DC существуют в виде небольших изолированных популяций и нередко характеризуются узкой специфичностью к определенным условиям (Sandanov et al. 2022). С учетом динамичности окружающей среды, воздействия неблагоприятных природных и антропогенных факторов, приводящих к разрушению местообитаний и сокращению численности популяций, вопрос о сохранении генетических ресурсов эндемичных видов является весьма актуальным.

Oxytropis vasskovskyi Jurtz. (Fabaceae) – многолетнее растение с пахучими железками и рыхлым каудексом (рис. 1), $2n = 16$ и 32 (Жукова 1983). Это эндемичный восточносибирский гипоарктический вид, который распространен в центральных и восточных районах Верхояно-Колымской горной страны, в основном в полосе гипоарктической тайги, и на западе Чукотки (Юрцев 1986; Малышев 2008). Вид обитает на приречных галечниках и скалах, на осыпях, в пойменных лесах и на хорошо дренированных склонах (Юрцев 1986; Павлова 1989; Малышев 2008). *Oxytropis vasskovskyi* относится к секции *Gloeocephala* Bunge подрода *Oxytropis* (Павлова 1989; Малышев 2008).

Ранее мы исследовали генетическое разнообразие видов двух так называемых арктических секций *Arctobia* Bunge (Холина и др. 2020) и *Gloeocephala* (Kholina et al. 2022). Было показано, что межгенные спейсеры *psbA-trnH*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хлоропластной ДНК (хпДНК) являются информативными маркерами для анализа генетической изменчивости, популяционной структуры и филогенетических связей видов рода *Oxytropis*. Были обнаружены общие закономерности для исследованных видов этих секций: (1) низкий уровень генетического разнообразия (большинство популяций характеризовались низким и средним гаплотипическим разнообразием, h изменялся от 0.154 до 0.583, и низким нуклеотидным разнообразием, а некоторые популяции были мономорфными); (2) чрезвычайно высокий уровень дивергенции популяций (основная доля всей генетической изменчивости приходилась

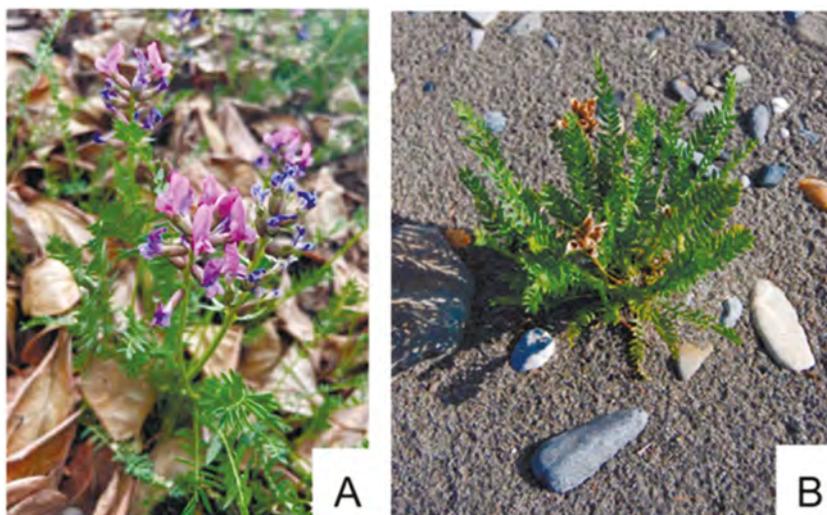


Рис. 1. *Oxytropis vasskovskyi*: А – цветение; В – плодоношение.
Fig. 1. *Oxytropis vasskovskyi*: A: in flowering; B: in fruiting.

на межпопуляционные различия, и уровень межпопуляционной изменчивости для ряда видов достигал 90% и более). Очевидно, что эти особенности связаны с эволюцией обитающих на северо-востоке Азии видов рода *Oxytropis*. Эта территория испытывала интенсивное оледенение в плейстоцене, что приводило к резкому колебанию численности популяций.

Исследованные нами ранее две популяции *O. vasskovskyi* из Магаданской области (Kholina et al. 2022) показали результаты, отличающиеся от выявленных закономерностей (Холина и др. 2020; Kholina et al. 2022). Так, если уровень нуклеотидного разнообразия (π исследованных популяций составил 0.0002 и 0.0005) не превышал значений, установленных для большинства популяций, то уровень гаплотипического разнообразия был средним и высоким (0.500 и 0.692, соответственно). Кроме того, генетическая изменчивость была на одном уровне внутри и между популяциями, при этом доля межпопуляционных различий была немного выше (56.29%). В связи с этим представляет интерес исследование генетической изменчивости и популяционной структуры *O. vasskovskyi* из других частей ареала для оценки генетического разнообразия этого вида.

Целью настоящей работы является изучение генетического разнообразия, популяционной структуры и реконструкция генеалогических связей гаплотипов *O. vasskovskyi* на основе анализа нуклеотидного полиморфизма межгенных спейсеров хпДНК.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили 37 растений *O. vasskovskyi* из пяти природных местонахождений (табл. 1, рис. 2). Ваучерные образцы хранятся в гербарии Института биологических проблем Севера ДВО РАН (MAG).

Табл. 1. Исследованные популяции *Oxytropis vasskovskyi* из Магаданской области.

Table 1. The studied populations of *Oxytropis vasskovskyi* from Magadan Oblast.

Местонахождение (число образцов) Locality (number of accessions)	Координаты с.ш., в. д. Coordinates N, E	Код популяции Code
1. Сусуманский р-н, окр. г. Сусуман, берег р. Берелёх (13)	62°48'19", 148°09'19"	VAS1
2. Сусуманский р-н, берег р. Арга-Юрях (7)	62°48'19", 147°17'14"	VAS2
3. Ягоднинский р-н, левый берег Колымы в 2 км выше Дебина (2)	62°18'33", 150°46'53"	VAS3
4. Сусуманский р-н, долина р. Омулёвка, гора возле устья р. Утуй (5)	63°59'57", 148°11'15"	VAS4
5. Сусуманский р-н, р. Омулёвка в 0.5 км выше устья р. Харкиндя, песчано-галечный остров (10)	64°16'09", 148°34'42"	VAS5

Примечание: жирным шрифтом выделены популяции, выборки из которых расширены или впервые исследованы.

Note: populations whose samples were expanded or studied for the first time in this paper are shown in bold.

Индивидуальные препараты тотальной ДНК выделены из листьев согласно стандартной методике (Artyukova et al. 2004). Амплификацию межгенных спейсеров *psbA-trnH*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* проводили с использованием универсальных праймеров и рекомендованных реакционных условий (Taberlet et al. 1991; Shaw et al. 2005). Нуклеотидные последовательности прямых и обратных цепей определяли



Рис. 2. Карта с указанием мест сбора растений *Oxytropis vasskovskyi* из пяти природных мест произрастания. Код популяции см. в табл. 1.

Fig. 2. Map showing the geographical origin of *Oxytropis vasskovskyi* populations analyzed in the present study. See Table 1 for population codes.

на генетическом анализаторе ABI 3500 (Applied Biosystems, USA), редактировали и собирали с помощью пакета программ Staden Package версия 1.5 (Bonfeld et al. 1995). Для каждого образца нуклеотидные последовательности выравнивали в программе SeaView версия 4.7 (Gouy et al. 2010). Матрицу объединенных последовательностей трех IGS хпДНК применяли для расчета числа гаплотипов, гаплотипического (h) и нуклеотидного (π) разнообразия (для популяций с числом образцов пять и более), показателей популяционной стабильности – Tajima (D) и Fu (F_s) тестов и анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) в пакете программ Arlequin версия 3.5 (Excoffier, Lischer 2010). Статистическую значимость (P) оценивали на основе 1023 пермутаций. Поток генов (Nm), степень дивергенции (D_{xy}) между популяциями на основе нуклеотидных замен и распределение парных нуклеотидных различий определяли в программе DnaSP версия 5.0 (Librado, Rozas 2009).

Генеалогические связи гаплотипов анализировали методом медианного соединения (Median-Joining, MJ) в программе Network версия 5.0 (Bandelt et al. 1999), кодируя каждую делецию или вставку, независимо от их размера, как единичное мутационное событие. В качестве внешней группы использовали полученные нами ранее для *O. glabra* (Lam.) DC. (Малышев 2008) секции *Mesogaea* Bunge (Козыренко и др. 2020) нуклеотидные последовательности *psbA-trnH*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хпДНК (номера доступа в GenBank LT856572, LT856585, LT856598 соответственно; см. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Работу проводили на оборудовании ЦКП «Биотехнология и генетическая инженерия» ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Результаты

Анализ полиморфизма хпДНК у 37 образцов *O. vasskovskyi* выявил, что длина *psbA-trnH* изменялась от 325 до 326 пн вследствие вариации длины мононуклеотидного повтора – поли-А (A_9 и A_{10}) мотив. В последовательностях этого региона переменных сайтов не обнаружено. Длина *trnL-trnF* варьировала от 760 до 762 пн вследствие вариации длины поли-Т ($T_{11}-T_{13}$), полиморфных сайтов не обнаружено. Длина *trnS-trnG* изменялась от 1190 до 1194 пн, различия обусловлены присутствием четырех переменных мононуклеотидных повторов: двух поли-А ($A_{11}-A_{13}$ и A_5-A_6) и двух поли-Т ($T_{11}-T_{12}$ и T_9-T_{11}). В последовательностях этого спейсера выявлен один полиморфный сайт. Длина матрицы объединенных последовательностей трех регионов составила 2284 сайтов: 2274 мономорфных, девять с пробелами, полученными при выравнивании последовательностей, и один переменный. В 37 образцах *O. vasskovskyi* выявлено 13 гаплотипов (GL15–GL27, табл. 2), из них три гаплотипа, общих для нескольких популяций (гаплотип GL16 – для 4 популяций, GL17 – для трех популяций, GL19 – для двух), и девять – уникальные. Параметры генетической изменчивости популяций представлены в таблице 2. Из четырех исследуемых популяций (с размером выборки пять образцов и более) три характеризовались высоким (0.692, 0.822 и 1.000) и одна средним (0.524) гаплотипическим разнообразием. Уровень нуклеотидного разнообразия низкий (0.0003–0.0008) во всех популяциях. Для совокупной выборки (37 образцов) гаплотипическое разнообразие составило 0.835 ± 0.041 , нуклеотидное разнообразие – 0.0008 ± 0.0005 .

Выявлены незначительные различия между популяцией VAS1 и остальными популяциями (табл. 3). Таким образом, у *O. vasskovskyi* почти отсутствует межпопуляционная дивергенция, степень которой служит одним из показателей генетической разобщенности популяций или видов.

Согласно результатам AMOVA (табл. 4), генетическая изменчивость у *O. vasskovskyi* распределена почти в равных долях между и внутри популяций. Поток генов между популяциями составил 0.25 мигрантов на поколение.

Моделирование генетических процессов в популяциях показывает, что типы и распределение генетической изменчивости в значительной мере должны определяться демографической историей (Rogers, Harpending 1992). Анализ распределения частот парных нуклеотидных различий между гаплотипами проведен только для популяции VAS1, так как в гаплотипах других популяций нуклеотидные замены не были обнаружены. На рисунке 3А показано унимодальное распределение парных нуклеотидных различий (рис. 3А), близкое к ожиданиям для растущей популяции, что свидетельствует о возможной недавней демографической экспансии или пространственном расширении. Результаты тестов на нейтральность представлены в табл. 5. Значение теста Tajima's *D* для популяции VAS1 отражает наличие большого количества редких аллелей, что можно объяснить расширением популяции после недавнего падения численности. Для других популяций значения теста Tajima's *D* равно нулю, это означает, что популяции находятся в условиях равновесия «мутация-дрейф». Однако для всех популяций значения статистически незначимы ($P > 0.05$). Отрицательные значения F_u 's F_s теста для всех популяций также свидетельствуют о возможной демографической экспансии или пространственном расширении популяций, при этом для популяций VAS1 и VAS2 значения этого теста статистически незначимы (табл. 5). Для популяций VAS4 и VAS5 результаты двух тестов имеют разную трактовку: тест Tajima's *D* не предполагает расширение популяции, а тест

Табл. 2. Генетическое разнообразие популяций *Oxytropis vasskovskyi*.

Table 2. Genetic diversity in *Oxytropis vasskovskyi* populations.

Код популяции (ссылка) Code (reference)	Генетическое разнообразие Genetic diversity		Гаплотип (количество образцов) Haplotype (number of accessions)	Номер доступа в Genbank GenBank accession nos.		
	гаплотипическое (SD) Haplotype (SD)	нуклеотидное (SD) Nucleotide (SD)		psbA-trnH	trnL-trnF	trnS-trnG
VAS1 (Kholina et al. 2022)	0.692 (0.119)	0.0005 (0.0004)	GL15 (1) GL16 (7) GL17 (3) GL18 (1) GL19 (1)	OD978295 OD978296 OD978297 OD978298 OD978299	OD982684 OD982685 OD982686 OD982687 OD982688	OD982981 OD982982 OD982983 OD982984 OD982985
VAS2 (Kholina et al. 2022)	0.524 (0.209)	0.0003 (0.0003)	GL19 (5) GL20 (1) GL21 (1)	OD978299 OD978300 PQ045886	OD982688 OD982689 PQ045893	OD982985 OD982986 PQ045900
VAS3 (Kholina et al. 2022)	–	–	GL16 (2)	OD978296	OD982685	OD982982
VAS4	1.000 (0.126)	0.0008 (0.0006)	GL16 (1) GL17 (1) GL22 (1) GL23 (1) GL24 (1)	OD978296 OD978297 PQ045887 PQ045888 PQ045889	OD982685 OD982686 PQ045894 PQ045895 PQ045896	OD982982 OD982983 PQ045901 PQ045902 PQ045903
VAS5	0.822 (0.097)	0.0005 (0.0004)	GL16 (2) GL17 (4) GL25 (2) GL26 (1) GL27 (1)	OD978296 OD978297 PQ045890 PQ045891 PQ045892	OD982685 OD982686 PQ045897 PQ045898 PQ045899	OD982982 OD982983 PQ045904 PQ045905 PQ045906

Примечание: SD – стандартное отклонение; жирным шрифтом выделены популяции, данные о генетическом разнообразии и номера доступа последовательностей, полученные в настоящем исследовании; (–) – расчёт параметров генетического разнообразия не производили в связи с малой выборкой популяции (менее 5 образцов).

Note: SD: standard deviation; populations, genetic diversity data, and sequence accession numbers obtained in this study are shown in bold; (–) the genetic parameters were not estimated owing to the small sample size (less than five specimens).

Табл. 3. Степень дивергенции между популяциями *Oxytropis vasskovskyi* по данным хлДНК.

Table 3. Nucleotide divergence between the *Oxytropis vasskovskyi* populations according to cpDNA data.

Популяция Population	VAS1	VAS2	VAS3	VAS4	VAS5
VAS1	–	0.077 (0)	0.077 (0)	0.077 (0)	0.077 (0)
VAS2	0.00003	–	0.000 (0)	0.000 (0)	0.000 (0)
VAS3	0.00003	0.00000	–	0.000 (0)	0.000 (0)
VAS4	0.00003	0.00000	0.00000	–	0.000 (0)
VAS5	0.00003	0.00000	0.00000	0.00000	–

Примечание: выше диагонали – среднее число нуклеотидных различий (число фиксированных различий), ниже диагонали – среднее число нуклеотидных замен на один сайт. Код популяции см. табл. 1.

Note: values above the diagonal are the mean number of nucleotide differences (the number of fixed differences); values below the diagonal are the mean number of nucleotide substitutions per site. See Table 1 for population codes.

Табл. 4. Распределение суммарной генетической изменчивости у *Oxytropis vasskovskyi* по данным хпДНК.

Table 4. Distribution of the total genetic variation in the populations of *Oxytropis vasskovskyi* according to the cpDNA data.

Источник изменчивости Source of variability	df	SSD	CV	%	Индекс фиксации Fixation index
Между популяциями Between populations	4	14.076	0.43140	44.42	$\Phi_{ST} = 0.44416^*$
Внутри популяций Within populations	32	17.276	0.53987	55.58	
Общая Total	36	31.351	0.97127		

Примечание: df – число степеней свободы; SSD – сумма квадратов; CV – абсолютное значение компоненты изменчивости; % – процент генетической изменчивости; Φ_{ST} – компонента изменчивости, связанная с межпопуляционной изменчивостью; * $P < 0.0001$. Уровень значимости определен на основе 1023 пермутаций.

Note: df is degrees of freedom; SSD is the sum of squares; CV is the absolute value of the variability component; % is the percentage of genetic variability; Φ_{ST} is the variability component associated with interpopulation variability; * $P < 0.0001$. The level of significance is determined on the basis of 1023 permutations.

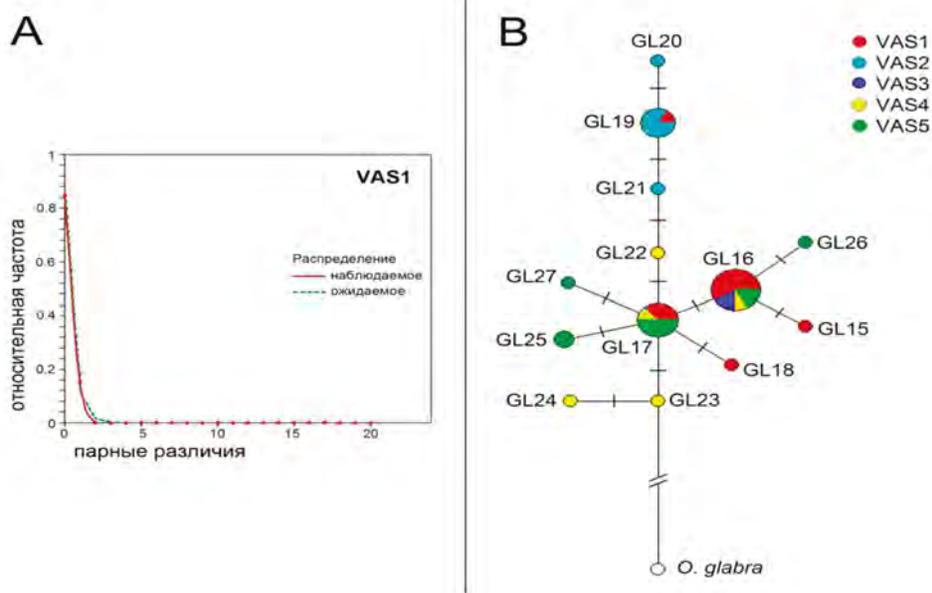


Рис. 3. А – попарное распределение нуклеотидных различий в популяции VAS1 *O. vasskovskyi*; В – генеалогическая сеть гаплотипов *O. vasskovskyi*, построенная с помощью MJ-метода. Размер окружности отражает частоту встречаемости гаплотипов, черные пересекающие линии – мутации; код популяций см. в табл. 1.

Fig. 3. A: mismatch distributions in VAS1 population of *O. vasskovskyi*, the solid line is the expected distribution, the dashed line is the observed distribution; B: the genealogical network of haplotypes of *O. vasskovskyi* constructed using the MJ method; the size of circles reflects the frequency of occurrence of haplotypes, cross lines are mutations). See Table 1 for population codes.

Табл. 5. Тесты на нейтральность/демографию популяций *Oxytropis vasskovskyi* по данным хпДНК.

Table 5. Population stability tests in *Oxytropis vasskovskyi* according to cpDNA data.

	VAS1	VAS2	VAS4	VAS5
Tajima's <i>D</i>	-1.14915*	0.00000*	0.00000*	0.00000*
Fu's <i>F_s</i>	-1.57032*	-0.92180*	-3.30387**	-1.75772**

Примечание: * *P*-value > 0.05; ** *P*-value < 0.05.

Note: * *P*-value > 0.05; ** *P*-value < 0.05.

Fu's *F_s* показал высокие отрицательные и статистически значимые величины. Это может указывать на локальное частичное расширение популяции после некоторого снижения численности.

Для исследования генеалогических связей между гаплотипами *O. vasskovskyi* построена медианная сеть (рис. 3В). В ней присутствуют две хорошо выраженные «звездчатые» структуры с одним из общих гаплотипов GL16 (для популяций VAS1, VAS3, VAS4 и VAS5) и GL17 (для популяций VAS1, VAS4 и VAS5) в центре. Распределение гаплотипов в сети не соответствует популяционной принадлежности, что указывает на отсутствие филогенетической структуры. MJ-сеть имеет малую генеалогическую глубину, поскольку каждый гаплотип в сети отделен от ближайшего гаплотипа только одним мутационным шагом.

Обсуждение

Для большинства эндемичных видов характерен невысокий уровень генетического разнообразия в изолированных популяциях, что не обеспечивает адаптивный потенциал видов и увеличивает риск их исчезновения (Gitzendanner, Soltis 2000; Willi et al. 2006). С учетом этого, для сохранения эндемиков необходимо определение объема генетического разнообразия. Проведенное нами исследование популяций *O. Vasskovskyi*, по данным анализа нуклеотидного полиморфизма хпДНК, выявило среднее и высокое гаплотипическое (*h* изменялось от 0.524 до 1.000) и низкое нуклеотидное (*π* изменялось от 0.0003 до 0.0008) разнообразие (табл. 2).

Ранее нами были исследованы несколько видов рода *Oxytropis*, эндемичных на Дальнем Востоке и в Байкальской Сибири (Козыренко и др. 2020; Холина и др. 2018, 2020, 2023, 2024; Artyukova et al. 2011; Kholina et al. 2018, 2021, 2022). При сравнительном анализе данных по генетическому разнообразию *Oxytropis* обнаружился ряд особенностей (табл. 6). Так, генетически однородные популяции встречались только у видов с Дальнего Востока. Число гаплотипов в популяциях дальневосточных эндемиков было в среднем 3–4, а в популяциях из Байкальской Сибири – 5–6. Для большинства популяций дальневосточных видов гаплотипическое разнообразие было низким и средним (исключение составили некоторые популяции *O. ruthenica* Vass., *O. chankaensis* Jurtz. и *O. vassilczenkoi* Jurtz.), для большинства популяций сибирских эндемиков уровень гаплотипического разнообразия был высокий, *h* изменялось от 0.762 до 1.000, исключение составили единичные популяции *O. glandulosa* Turcz. и *O. peschkovae* М. Попов. Для большинства популяций дальневосточных видов был отмечен низкий уровень нуклеотидного разнообразия (*π* изменялось от 0.0001 до 0.0009), и только для пяти популяций из 30 исследованных *π* изменялось от 0.0011 до 0.0020 (Козыренко и др. 2020; Холина и др. 2020, 2023), а для большинства популяций сибирских видов нуклеотидное разнообразие было выше 0.0020, и у трети

популяций из 15 исследованных π изменялось от 0.0036 до 0.0082 (Холина и др. 2018, 2023, 2024; Kholina et al. 2018, 2021). Более высокий уровень нуклеотидного разнообразия в популяциях сибирских видов по сравнению с дальневосточными может указывать на более древний возраст видов из Байкальской Сибири. Высокий уровень нуклеотидного разнообразия характерен для видов с длительной эволюционной историей, в течение которой происходило накопление мутаций (Kajtoch et al. 2016; Plenk et al. 2020). Кроме того, популяции сибирских видов расположены вблизи от центра происхождения рода *Oxytropis*. Принято считать, что этот род произошел от видов рода *Astragalus* L. на границе миоцена–плиоцена в горах Южной Сибири (Положий 2003). В дальнейшем возникли вторичные центры видообразования, крупными из которых стали Центральная Азия, Байкальская Сибирь, а также азиатский сектор Мегаберингии. По нашим данным, полученным на основе полиморфизма маркеров хпДНК (Kholina et al. 2018, 2021; Sandanov et al. 2023), в Байкальской Сибири продолжают активные процессы видообразования на основе полиплоидизации и гибридизации, вследствие чего для многих видов рода *Oxytropis* этого региона, включая эндемичные, характерен высокий уровень генетического разнообразия. Примечательно, что у распространенного на севере Китая, во Внутренней Монголии (на территории, близкой к центру происхождения рода *Oxytropis*), *O. diversifolia* E. Peter, по данным нуклеотидного полиморфизма пяти IGS хпДНК, также выявлено высокое гаплотипическое разнообразие ($h = 0.880$), а в популяциях узколокального эндемичного вида *O. neimonggolica* C. W. Chang & Y. Z. Zhao, произрастающего на этой же территории, h изменялось от 0.250 до 0.679 (Wang et al. 2021).

Исследованные в настоящей работе популяции эндемичного вида *O. vasskovskyi* по уровню генетического разнообразия занимают промежуточное положение между дальневосточными и сибирскими видами. Уровень нуклеотидного разнообразия не превышал значений, установленных для большинства популяций видов двух арктических секций *Arctobia* и *Gloecephala* (π изменялось от 0.0003 до 0.0008), а уровень гаплотипического разнообразия был средним (0.524) и высоким (0.692–1.000) и имел максимальные значения для изученных видов двух секций (табл. 6). Среди дальневосточных видов подобный уровень гаплотипического разнообразия был отмечен в популяциях *O. vassilczenkoi* (секция *Orobia* Bunge), происходящего от высокополиморфного сибирского вида *O. strobilacea* Bunge (Холина и др. 2023). По-видимому, выявленный у *O. vasskovskyi* уровень полиморфизма также мог быть унаследован от предкового вида с высоким уровнем генетического разнообразия. На это косвенно указывают данные анализа популяционной структуры *O. vasskovskyi*. Значительных генетических различий между географически изолированными популяциями этого вида не выявлено, за исключением популяции VAS1 (табл. 3). При этом обнаружен высокий уровень межпопуляционной дифференциации (табл. 4). Это свидетельствует о том, что обмен генами между популяциями невысокий ($Nm = 0.25$) и затруднен, вероятно, в связи с особенностями рельефа и/или недостаточным количеством опылителей. Цветки видов рода *Oxytropis* мелиттофильные, опыляются шмелями.

Обнаружено совпадение ареалов видов *Oxytropis* и опылителей, а отсутствие видов этого рода в высокогорных тундрах объясняют отсутствием опылителей (Панфилов и др. 1960; Юрцев 1986). Вполне вероятно, что отсутствие генетических различий между популяциями вызвано не интенсивным обменом генами между ними, а недавним общим происхождением от исходной формы с высоким уровнем генетического разнообразия. При этом уровень межпопуляционной дифференциации

Табл. 6. Генетическое разнообразие в популяциях эндемичных видов *Oxytropis* Азиатской России по данным хпДНК.
Table 6. The genetic diversity in the populations of the endemic *Oxytropis* species from Asian Russia according to cpDNA data.

Вид (число исследованных популяций) Species (number of populations studied)	Регион Region	Число популяций ¹ (из них мономорфных)/ A number of populations (of which are monomorphic)/ individuals/haplotypes	Разнообразие ¹ Diversity		Индекс фиксации Fixation indices ФСТ	Ссылка Reference
			гаплотипическое haplotype diversity, h	нуклеотидное nucleotide diversity, π		
Дальний Восток / Russian Far East						
Секция <i>Gloeosperhala</i> / Section <i>Gloeosperhala</i>						
<i>O. vasskovskyi</i> (5)	МО / МО	4(0)/35/12	0.524–1.000	0.0003–0.0008	0.4442*	Настоящая работа
<i>O. anadyrensis</i> Vass. (4)	КК, ЧАО / КК, ChAD	2(1)/24/3	0.000; 0.143	0.0000; 0.0001	0.9979*	(Kholina et al. 2022)
<i>O. trautvetteri</i> Meinsh. (1)	МО / МО	1(1)/10/1	0.000	0.0000	–	(Kholina et al. 2022)
Секция <i>Arctobia</i> / Section <i>Arctobia</i>						
<i>O. exserta</i> Jurtz. (3)	МО / МО	1(0)/7/3	0.524	0.0020	0.7031**	(Холина и др. 2020)
<i>O. kamtschatica</i> Hult. (2)	КК / КК	1(1)/5/1	0.000	0.0000	0.8464**	(Холина и др. 2020)
<i>O. pumilio</i> (Pall.) Ledeb. (4)	КК / КК	1(0)/9/4	0.583	0.0005	0.9762*	(Холина и др. 2020)
Секция <i>Orobia</i> / Section <i>Orobia</i>						
<i>O. erecta</i> Kom. (4)	КК / КК	1(0)/16/3	0.425	0.0009	0.8215 ns	(Козыренко и др. 2020)
<i>O. ochotensis</i> Bunge (10)	КК, МО / КК, МО	4(1)/47/8	0.000; 0.378–0.495	0.0000; 0.0006–0.0009	0.8703*	(Козыренко и др. 2020)
<i>O. ruthenica</i> Vass. (7)	ПК / ПК	7(1)/99/18	0.000; 0.154–0.872	0.0000; 0.0002–0.0016	0.8898*	(Козыренко и др. 2020)

<i>O. vassilzenkoi</i> Jurtz. (4)	КК, МО / КК, МО	3(0)/36/18	0.769–0.917	0.0005– 0.0017	0.7757*	(Холина и др. 2023)
Секция <i>Verticillares</i> / Section <i>Verticillares</i>						
<i>O. chankaensis</i> Jurtz. (5)	ПК / РК	5(0)/63/7	0.604–0.758	0.0004– 0.0005	0.0903**	(Artyukova et al. 2011)
Байкальская Сибирь / Baikal Siberia						
Секция <i>Orobia</i> / Section <i>Orobia</i>						
<i>O. adamsiana</i> (Trautv.) Jurtzev (5)	РБ / RB	1(0)/10/8	0.956	0.0047	0.4334**	(Холина и др. 2023)
Секция <i>Polyadena</i> / Section <i>Polyadena</i>						
<i>O. glandulosa</i> Turcz. (4)	РБ / RB	4(0)/49/11	0.133–0.911	0.0002– 0.0059	0.7578*	(Kholina et al. 2018)
Секция <i>Verticillares</i> / Section <i>Verticillares</i>						
<i>O. bargusinensis</i> Peschkova (2)	РБ / RB	2(0)/30/16	0.762–0.895	0.0018– 0.0022	0.0273 ns	(Холина и др. 2018)
<i>O. interposita</i> Sipl. (1)	РБ / RB	1(0)/14/5	0.769	0.0015	–	(Холина и др. 2018)
<i>O. tompudae</i> M. Pop. (1)	РБ / RB	1(0)/6/6	0.893	0.0026	–	(Холина и др. 2018, 2024)
Секция <i>Xerobia</i> / Section <i>Xerobia</i>						
<i>O. peschkovae</i> M. Popov (2)	ИО / IO	2(0)/20/11	0.345–0.972	0.0016– 0.0082	0.3155**	(Kholina et al. 2021)
<i>O. triphylla</i> (Pall.) Pers. (7)	РБ, ИО / RB, IO	4(0)/34/21	0.800–1.000	0.0018– 0.0025	0.1217**	(Kholina et al. 2021)

Примечание: ¹ – данные по генетическому разнообразию приведены для популяций с числом особей 5 и более; Φ_{ST} – компонента изменчивости, связанная с межпопуляционной изменчивостью; * $P < 0.0001$; ** $P < 0.05$; ns – незначимое. Уровень значимости определен на основе 1023 пермутаций. МО – Магаданская обл.; КК – Камчатский край; ЧАО – Чукотский автономный округ; ПК – Приморский край; РБ – Республика Бурятия; ИО – Иркутская обл.

Note: ¹ genetic diversity data are presented for populations with five or more individuals; Φ_{ST} : the variability component associated with interpopulation variability; * $P < 0.0001$; ** $P < 0.05$; ns – not significant. The level of significance is determined on the basis of 1023 permutations. Abbreviations: МО: Magadan Oblast; КК: Kamchatka Krai; ЧАО: Chukotka Autonomous District; ПК: Primorsky Krai; РБ: Republic of Buryatia; ИО: Irkutsk Oblast.

у *O. vasskovskyi* является наименьшим из установленных для видов арктических секций и других дальневосточных видов (табл. 6), за исключением узколокального эндемика *O. chankaensis*, популяции которого расположены на небольшом расстоянии друг от друга (Artyukova et al. 2011). По-видимому, даже при определенных ограничениях обмен генами между популяциями *O. vasskovskyi* может осуществляться через цепь промежуточных местообитаний.

Для трех популяций (VAS1, VAS4 и VAS5) отмечены следующие особенности: сочетание высокого гаплотипического и низкого нуклеотидного разнообразия (табл. 2); высокие отрицательные значения Tajima's *D* (табл. 5); унимодальная форма кривой распределения, характерная для расширяющейся популяции (VAS1, рис. 3А). Высокие значения *h* и низкие π характерны для популяций с быстрым ростом численности от небольшого числа основателей, когда прошло достаточное время для восстановления гаплотипической изменчивости за счет мутационного процесса, но недостаточное для накопления значительных нуклеотидных различий в последовательностях ДНК (Avice 2000; Абрамсон 2007). Данные демографического анализа также свидетельствуют о возможной недавней демографической экспансии или о пространственном расширении этих трех популяций.

На недавнее и быстрое расширение популяций указывает и расположение гаплотипов в генеалогической сети (рис. 3В). Расположенные в центре сети гаплотипы GL17 и GL16 являются общими для нескольких популяций, что указывает на общее происхождение этих популяций. Наличие «звездчатых» структур с одним из общих гаплотипов в центре, которые связаны с ближайшим гаплотипом через один мутационный шаг, свидетельствует о недавнем происхождении популяций на исследованной части ареала, что согласуется с полученными нами демографическими данными. Такая «звездообразная» топология предполагает быстрый поток генов между популяциями небольшого эффективного размера (с малым числом способных к размножению особей), которые не были разделены барьерами и испытали быстрое и недавнее расширение (Avice 2000). Наличие общих гаплотипов в разных популяциях может быть обусловлено несколькими причинами, среди которых основными принято считать сохранение полиморфизма предковой формы и неполное расхождение генеалогических линий, либо взаимное влияние этих факторов (Shepherd et al. 2017; Schanzer et al. 2020; Yang et al. 2022). Распределение гаплотипов *O. vasskovskyi*, несоответствующее популяционной принадлежности (рис. 3В), обусловлено, скорее всего, существующим потоком генов между популяциями, с одной стороны, и неполным расхождением филетических линий, с другой. Наличие в сети внутренних общих гаплотипов с высокой частотой и широким географическим распространением может свидетельствовать как о присутствии анцестрального полиморфизма, так и о текущем обмене генами. Таким образом, обнаруженные общие гаплотипы для нескольких популяций, формирование единой гаплогруппы и присутствие «звездчатых» структур в медианной сети, а также невысокий уровень межпопуляционной дифференциации указывают на общность происхождения изученных популяций и их относительно недавнюю дивергенцию.

Заключение

Изучение эндемичного вида *O. vasskovskyi* выявило низкий уровень нуклеотидного разнообразия в популяциях (0.0003–0.0008), характерный для других видов секции *Gloecephala* и для большинства популяций эндемичных дальневосточных видов *Oxytropis*. В то же время в трех популяциях вида был обнаружен высокий

уровень гаплотипического разнообразия, более характерный для эндемичных видов Байкальской Сибири, что свидетельствует о вероятно высоком уровне полиморфизма предковых форм *O. vasskovskyi*. Гаплотипы пяти популяций образуют в генеалогической сети единый комплекс, что может быть обусловлено их общим происхождением, относительно недавней дивергенцией и неполным расхождением генеалогических линий, а также существующим обменом генами между популяциями. Три популяции *O. vasskovskyi*, возможно, испытали недавнюю локальную демографическую экспансию или пространственное расширение. Низкий уровень нуклеотидного разнообразия и отсутствие нуклеотидных замен в четырех из пяти изученных популяций указывают на необходимость использования мер по охране всех известных местонахождений, проведения поиска новых местонахождений, изучения демографической структуры, генетического разнообразия популяций и регулярного мониторинга их состояния.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (темы № 124012400285-7 и 123032000015-3).

Литература (References)

- Абрамсон Н. И.** 2007. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // *Информационный вестник ВОГиС*. Т. 11. № 2. С. 307–331. (**Abramson N. I.** 2007. Phylogeography: results, issues and perspectives. *VOGiS Herald* 11(2): 307–331. [In Russian].)
- Артюкова Е. В., Холина А. Б., Козыренко М. М., Журавлёв Ю. Н.** 2004. Анализ генетической изменчивости редкого эндемичного вида *Oxytropis chankaensis* Jurtz. (Fabaceae) на основе RAPD-маркеров // *Генетика*. Т. 40. № 7. С. 877–884. (**Artyukova E. V., Kholina A. B., Kozyrenko M. M., Zhuravlev Yu. N.** 2004. Analysis of genetic variation in rare endemic species *Oxytropis chankaensis* Jurtz. (Fabaceae) using RAPD markers. *Russian Journal of Genetics* 40(7): 710–716.)
- Воронкова Н. М., Холина А. Б.** 2010. Сохранение эндемичных видов Дальнего Востока России с помощью глубокого замораживания семян // *Известия РАН. Серия биологическая*. Т. 37. № 5. С. 581–586. (**Voronkova N. M., Kholina A. B.** 2010. Conservation of endemic species from the Russian Far East using seed cryopreservation. *Biology Bulletin* 37(5): 496–501.) <https://doi.org/10.1134/S1062359010050092>
- Жукова П. Г.** 1983. Числа хромосом у некоторых видов семейства Fabaceae с северо-востока Азии // *Ботанический журнал*. Т. 68. № 7. С. 925–932. (**Zhukova P. G.** 1983. Chromosome numbers of some species of the family Fabaceae from North-East Asia. *Botanicheskii Zhurnal* 68(7): 925–932. [In Russian].)
- Козыренко М. М., Холина А. Б., Артюкова Е. В., Колдаева М. Н., Якубов В. В., Прокопенко С. В.** 2020. Молекулярно-филогенетическая характеристика эндемичных дальневосточных близкородственных видов секции *Orobia* рода *Oxytropis* (Fabaceae) // *Генетика*. Т. 56. № 4. С. 421–432. (**Kozyrenko M. M., Kholina A. B., Artyukova E. V., Koldaeva M. N., Yakubov V. V., Prokopenko S. V.** 2020. Molecular phylogenetic analysis of the endemic Far Eastern closely related *Oxytropis* species of section *Orobia* (Fabaceae). *Russian Journal of Genetics* 56(4): 429–440.) <https://doi.org/10.1134/S1022795420040043>
- Малышев Л. И.** 2008. Разнообразие рода Остролодка (*Oxytropis*) в Азиатской России // *Turczaninowia*. Т. 11. № 4. С. 5–141. (**Malyshev L. I.** 2008. Diversity of the genus *Oxytropis* in the Asian part of Russia. *Turczaninowia* 11(4): 5–141. [In Russian].)
- Павлова Н. С.** 1989. Остролодочник – *Oxytropis* DC. В кн.: Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 4. – Л.: Наука. С. 236–280. (**Pavlova N. S.** *Oxytropis* DC. In: The vascular plants of the Soviet Far East. Vol. 4. Leningrad: Nauka; 236–280. [In Russian].)
- Панфилов Д. В., Шамурин В. Ф., Юрцев Б. А.** 1960. О сопряженном распространении шмелей и бобовых в Арктике // *Бюллетень МОИП. Отдел биологический*. Т. 65. № 3. С. 53–62. (**Panfilov D. V., Shamurin V. F., Jurtsev B. A.** 1960. On the conjugate distribution on bumblebees and legumes in the Arctic. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series* 65(3): 53–62. [In Russian].)

- Положий А. В. 2003. К вопросу о происхождении и эволюции рода *Oxytropis* (Fabaceae) // *Ботанический журнал*. Т. 88. № 10. С. 55–59. (Polozhiy A. V. On the problem of the origin and evolution of the genus *Oxytropis* (Fabaceae). *Botanicheskii Zhurnal* 88(10): 55–59. [In Russian].)
- Холина А. Б., Козыренко М. М., Артюкова Е. В., Санданов Д. В. 2018. Современное состояние популяций эндемичных видов *Oxytropis* Байкальской Сибири и их филогенетические связи по данным секвенирования маркеров хлоропластной ДНК // *Генетика*. Т. 54. № 7. С. 795–806. (Kholina A. B., Kozyrenko M. M., Artyukova E. V., Sandanov D. V. 2018. Modern state of populations of endemic *Oxytropis* species from Baikal Siberia and their phylogenetic relationships based on chloroplast DNA markers. *Russian Journal of Genetics* 54(7): 805–815.) <https://doi.org/10.1134/S1022795418070050>
- Холина А. Б., Козыренко М. М., Артюкова Е. В., Якубов В. В., Хорева М. Г., Андриянова Е. А., Мочалова О. А. 2020. Филогенетические отношения видов *Oxytropis* секции *Arctobia* северо-востока Азии по данным секвенирования межгенных спейсеров хлоропластного и ITS ядерного геномов // *Генетика*. Т. 56. № 12. С. 1387–1398. (Kholina A. B., Kozyrenko M. M., Artyukova E. V., Yakubov V. V., Khoreva M. G., Andrianova E. A., Mochalova O. A. 2020. Phylogenetic relationships of *Oxytropis* section *Arctobia* of Northeast Asia according to sequencing of the intergenic spacers of chloroplast and ITS of nuclear genomes. *Russian Journal of Genetics* 56(12): 1424–1434.) <https://doi.org/10.1134/S1022795420120091>
- Холина А. Б., Артюкова Е. В., Якубов В. В., Хорева М. Г., Мочалова О. А., Санданов Д. В., Селютина И. Ю. 2023. Генетическая дивергенция близкородственных видов *Oxytropis strobilacea*, *Oxytropis adamsiana* и *Oxytropis vassilczenkoi* ряда *Strobilacei* секции *Orobia* (Fabaceae) Азиатской России // *Известия РАН. Серия биологическая*. Т. 50. № 1. С. 11–21. <https://doi.org/10.31857/S1026347023010067> (Kholina A. B., Artyukova E. V., Yakubov V. V., Khoreva M. G., Mochalova O. A., Sandanov D. V., Selyutina I. Yu. 2020. Genetic divergence of closely related species *Oxytropis strobilacea*, *Oxytropis adamsiana*, *Oxytropis vassilczenkoi* (series *Strobilacei* section *Orobia* family Fabaceae) from Asian Russia. *Biology Bulletin* 50(1): 8–18.) <https://doi.org/10.1134/S1062359023010065>
- Холина А. Б., Артюкова Е. В., Санданов Д. В. 2024. Пути эволюции видов *Oxytropis* секции *Verticillares* в центре происхождения секции // *Генетика*. Т. 60. № 2. С. 152–167. (Kholina A. B., Artyukova E. V., Sandanov D. V. 2023. The evolutionary pathways of *Oxytropis* species of the section *Verticillares* at the center of the section origin. *Russian Journal of Genetics* 60(2): 152–167.) <https://doi.org/10.1134/S1022795424020078>
- Юрцев Б. А. 1986. *Oxytropis* DC. В кн.: Арктическая флора СССР. Вып. 9. Ч. 2. – Л.: Наука. С. 61–146. (Yurtsev B. A. 1986. *Oxytropis* DC. In: Arctic Flora of the Soviet Union. Vol. 9. part 2. Leningrad: Nauka; 61–146. [In Russian].)
- Artyukova E. V., Kozyrenko M. M., Kholina A. B., Zhuravlev Yu. N. 2011. High chloroplast haplotype diversity in the endemic legume *Oxytropis chankaensis* may result from independent polyploidization events. *Genetica* 139(2): 221–232. <https://doi.org/10.1007/s10709-010-9539-8>
- Avise J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 441 pp.
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1): 37–48.
- Bonfeld J. K., Smith K. F., Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program. *Nucleic Acids Research* 23: 4992–4999. <https://doi.org/10.1093/nar/23.24.4992>
- Excoffier L., Lischer H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Gitzendanner M. A., Soltis P. S. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *American Journal of Botany* 87(6): 783–792.
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. 2010. SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* 27: 221–224. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Kajtoch L., Cieslak E., Varga Z., Paul W., Mazur M. A., Sramko G., Kubisz D. 2016. Phylogeographic patterns of steppe species in Eastern Central Europe: a review and the implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* 25: 2309–2339. <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1065-2>
- Kholina A., Kozyrenko M., Artyukova E., Sandanov D., Selyutina I., Chimitov D. 2018. Plastid DNA variation of the endemic species *Oxytropis glandulosa* Turcz. *Turkish Journal of Botany* 42: 38–50. <https://doi.org/10.3906/bot-1706-11>

- Kholina A., Kozyrenko M., Artyukova E., Sandanov D., Selyutina I.** 2021. Genetic diversity of *Oxytropis* section *Xerobia* (Fabaceae) in one of the centres of speciation. *Genetica* 149(2): 89–101. <https://doi.org/10.1007/s10709-021-00115-9>
- Kholina A., Kozyrenko M., Artyukova E., Yakubov V., Khoreva M., Andrianova E., Mochalova O., Sandanov D.** 2022. Phylogenetic relationships of *Oxytropis* section *Gloeocephala* from Northeast Asia based on sequencing of the intergenic spacers of cpDNA and ITS nrDNA. *Genetica* 150: 117–128. <https://doi.org/10.1007/s10709-022-00152-y>
- Librado P., Rozas J.** 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451–1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
- Plenk K., Willner W., Demina O. N., Höhn M., Kuzemko A., Vassilev K., Kropf M.** 2020. Phylogeographic evidence for long-term persistence of the Eurasian steppe plant *Astragalus onobrychis* in the Pannonian region (eastern Central Europe). *Flora* 264: 151555. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151555>
- Rogers A. R., Harpending H.** 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9(3): 552–569.
- Sandanov D. V., Dugarova A. S., Brianskaia E. P., Selyutina I. Yu., Makunina N. I., Dudov S. V., Chepinoga V. V., Wang Zh.** 2022. Diversity and distribution of *Oxytropis* DC. (Fabaceae) species in Asian Russia. *Biodiversity Data Journal* 10: e78666. <https://doi.org/10.3897/BDJ.10.e78666>
- Sandanov D. V., Kholina A. B., Kozyrenko M. M., Artyukova E. V., Wang Zh.** 2023. Genetic diversity of *Oxytropis* species from the center of the genus origin: insight from molecular studies. *Diversity* 15(2): 244. <https://doi.org/10.3390/d15020244>
- Schanzer I. A., Fedorova A. V., Shelepova O. V., Suleymanova G. F.** 2020. Molecular phylogeny and phylogeography of *Potentilla multifida* L. agg. (Rosaceae) in Northern Eurasia with special focus on two rare and critically endangered endemic species, *P. vulgarica* and *P. eversmanniana*. *Plants* 9: 1798. <https://doi.org/10.3390/plants9121798>
- Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W., Miller J., Siripun K. C., Winder C. T., Schilling E. E., Small R. L.** 2005. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany* 92: 142–166. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
- Shepherd L. D., Lange P. J., Perrie L. R., Heenan P. B.** 2017. Chloroplast phylogeography of New Zealand *Sophora* trees (Fabaceae): extensive hybridization and widespread Last Glacial Maximum survival. *Journal of Biogeography* 44: 1640–1651.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J.** 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.
- Wang H., Liu P.-L., Li J., Yang H., Li Q., Chang Zh.-Y.** 2021. Why more leaflets? The role of natural selection in shaping the spatial pattern of leaf-shape variation in *Oxytropis diversifolia* (Fabaceae) and two close relatives. *Frontiers in Plant Science* 12: 681962. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.681962>
- Willi Y., Van Buskirk J., Hoffmann A. A.** 2006. Limits to the adaptive potential of small populations. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37: 433–458. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110145>
- Yang Zh., Ma W.-X., He X., Zhao T.-T., Yang X.-H., Wang L.-J., Ma Q.-H., Liang L.-S., Wang G.-X.** 2022. Species divergence and phylogeography of *Corylus heterophylla* Fisch complex (Betulaceae): inferred from molecular, climatic and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 168: 107413. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107413>