

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ВИДОВ
Oxytropis DC. subg. *Oxytropis* И *Phacoxytropis* (Fabaceae)
АЗИАТСКОЙ РОССИИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДНЫХ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МЕЖГЕННЫХ СПЕЙСЕРОВ
ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА

© 2016 г. А. Б. Холина¹, М. М. Козыренко¹,
Е. В. Артюкова¹, Д. В. Санданов², Е. А. Андриянова³

¹Биологический институт Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток 690022

²Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения
Российской академии наук, Улан-Удэ 670047

³Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Магадан 685000

e-mail: kholina@biosoil.ru

Поступила в редакцию 06.11.2015 г.

Анализ нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров *trnH–psbA*, *trnL–trnF* и *trnS–trnG* хлоропластной ДНК у представителей рода *Oxytropis* Азиатской России позволил прояснить филогенетические взаимоотношения некоторых видов и секций в подродах *Oxytropis* и *Phacoxytropis* и в роде *Oxytropis* в целом. Подроду *Phacoxytropis* корреспондирует лишь секция *Mesogaea*, а секция *Janthina* этого же подрода объединяется с секциями подрода *Oxytropis*. Секции *Chrysanthia* и *Ortholoma* подрода *Oxytropis* не только близкородственные друг другу, но и объединяются вместе с секцией *Mesogaea* в подрод *Phacoxytropis*. По-видимому, секции *Chrysanthia* и *Ortholoma* следует отнести в подрод *Phacoxytropis*, а секцию *Janthina* – в подрод *Oxytropis*. Выявлены молекулярные различия между *O. coerulea* и *O. mandshurica* секции *Janthina*, которые свидетельствуют о значительной дивергенции их хлоропластных геномов и видовой самостоятельности таксонов. Также подтверждена видовая самостоятельность *O. czukotica* секции *Arctobia*.

Ключевые слова: *Oxytropis*, Fabaceae, филогенетические взаимоотношения, межгенные спейсеры, хлоропластная ДНК

DOI: 10.7868/S0016675816060060

Полиморфный род *Oxytropis* DC. представляет собой одну из наиболее сложных в таксономическом отношении групп сем. Fabaceae Lindl. s.l. По современным данным он включает от 310 [1] до 450 видов [2], распространенных в умеренных и арктических зонах Северного полушария [3–5]. В Азиатской России (Сибирь и Дальний Восток) обнаружены 142 вида и 24 подвида в составе пяти подродов и 16 секций [6]. Здесь находятся основные (за исключением Центральной Азии) очаги видового многообразия: на крайнем северо-востоке Азии – 32 вида и 12 подвидов [3], в горах Южной Сибири – 69 видов, из них на Алтае – 39 [7]. В разнообразных географических и экологических условиях Азиатской России внутри рода широко представлены межвидовая гибридизация и быстрая адаптивная радиация молодых видов. Ситуация осложняется распространением полиплоидии среди представителей рода *Oxytropis*

(основное число $x = 8$), особенно арктических и альпийских видов, для которых известны хромосомные числа $2n = 16, 32, 48, 64, 96$ [3, 6]. Варьирование числа видов внутри рода связано с различиями в таксономической обработке, когда таксоны низкого ранга описывают как “разновидности” или “подвиды”, либо как отдельные виды, поэтому систематика рода вызывает серьезные разногласия [6]. Таксономическая обработка видов *Oxytropis* разных регионов Азиатской России приведена в различных публикациях [1–6, 8–11]. Однако существуют определенные противоречия между классификационными схемами разных авторов как в разделении видов на секции, так и в определении статуса отдельных видов. В частности, секции *Mesogaea* Bunge и *Janthina* Bunge одни авторы включают в подрод *Phacoxytropis* Bunge [2, 4, 6, 8, 9, 11], другие – в подрод *Oxytropis* ex genere *Oxytropis* DC. [1]. Кроме того, такие виды как *O.*

filiformis DC., *O. coerulea* (Pall.) DC. и *O. mandshurica* Bunge одни авторы относят к секции *Janthina* [2, 6, 8, 9, 11], другие – к секции *Eumorpha* (Bge.) Abduss. [1]. В последней обработке [1] *O. mandshurica* сведена до синонима *O. coerulea*, а *O. pilosa* (L.) DC. из секции *Chrysantha* Vass. [2, 5, 6, 9, 11] помещена в секцию *Mesogaea*. Таких противоречий и нерешенных вопросов много.

Молекулярные маркеры ядерного и хлоропластного геномов широко используются для уточнения систематики, популяционной и видовой идентификации, филогении. По данным секвенирования участков ядерного (ITS регион) и хлоропластного (ген *ndhF*) геномов успешно установлены филогенетические связи внутри отдельных секций и видов крупнейшего (более 2500 видов) рода *Astragalus* L. [12–15], генетически близкого рода *Oxytropis*. Свыше 90% из 104 лекарственных видов сем. Fabaceae типированы по нуклеотидным последовательностям межгенного спейсера *trnH–psbA* хлоропластной ДНК (хпДНК) [16]. Проведены филогенетические исследования арктических видов *Oxytropis* [17] и представителей рода из Внутренней Монголии (КНР) [18, 19]. По данным хпДНК установлена значительная дивергенция близкородственных видов *O. chan-kaensis* Jurtz. и *O. oxypylla* (Pall.) DC., при этом последовательности ITS региона были идентичными [20]. Таким образом, анализ хлоропластного генома, который в сем. Fabaceae наследуется по материнской линии [21], способствует решению спорных таксономических и филогенетических вопросов.

Цель нашего исследования – прояснить филогенетические взаимоотношения видов и секций в подродах *Oxytropis* и *Phacoxytropis* рода *Oxytropis* Азиатской России на основе сравнения нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров *trnH–psbA*, *trnL–trnF* и *trnS–trnG* хлоропластного генома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили 111 растений 59 видов рода *Oxytropis* (54 из Азиатской России и 5 из других регионов), относящихся к подродам *Oxytropis* и *Phacoxytropis*, из природных популяций и гербариев Главного Ботанического сада им. Н. В. Цицина (МНА), Ботанического института им. В. Л. Комарова (ЛЕ), гербария им. Л. М. Черепнина Красноярского государственного педагогического университета им. В. П. Астафьева (KRAS) (табл. 1). Названия подродов и секций приведены согласно обработке Л. И. Малышева [6]. В качестве внешней группы для филогенетических анализов были взяты растения *Astragalus chinensis* L. fil. и *A. davuricus* (Pall.) DC.

Индивидуальные препараты тотальной ДНК выделены по методике [22] из листовой ткани. Амплификацию межгенных спейсеров *trnH–psbA*, *trnL–trnF* и *trnS–trnG* хпДНК проводили с использованием универсальных праймеров, реакционных условий и температурных режимов, рекомендованных для этих участков [23, 24]. циклическое секвенирование обеих цепей фрагментов ДНК осуществляли с использованием набора флуоресцентно меченных нуклеотидов Big Dye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems). Нуклеотидные последовательности определяли на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, USA) и собирали с помощью пакета программ Staden Package v. 1.5 [25]. Для каждого образца последовательности регионов выравнивали вручную с использованием программы SeaView [26]. Полученные последовательности межгенных спейсеров депонированы в базу данных EMBL/GenBank под номерами доступа LM653125–LM653235; LN898474–LN898659. Последовательности регионов объединяли, в матрицу данных были включены последовательности этих же регионов хпДНК семи образцов *O. chan-kaensis* (FN808319–FN808339) и одного образца *O. oxypylla* (FR694955–FR694957), полученные нами ранее [20, 27].

С помощью пакета программ Arlequin v. 3.5 [28] определяли уровень дифференциации и распределение генетической изменчивости между группами гаплотипов (анализ молекулярной вариации, AMOVA). Значения дивергенции между нуклеотидными последовательностями (*p*-дистанции) получены с помощью пакета программ MEGA5 [29]. Генеалогические взаимоотношения гаплотипов определяли методом медианного связывания (Median Joining, MJ) с помощью программы NETWORK версии 4.6.1.3 [30], кодируя каждую инсерцию или делецию, независимо от их размера, как единичное мутационное событие. Филогенетический анализ последовательностей проводили методами максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML), ближайшего связывания (Neighbour-Joining, NJ) и максимальной экономии (Maximum Parsimony, MP) с помощью пакета программ PAUP v. 4.0b10 [31]. Оптимальную модель эволюции нуклеотидных последовательностей для ML и NJ анализов выбирали в программе Modeltest v. 3.06 [32] с использованием иерархических тестов. Для ML и MP анализов применяли эвристический поиск оптимальной топологии. Статистическую достоверность порядка ветвления оценивали с помощью бутстреп-анализа 1000 альтернативных деревьев (Bootstrap Percentage, BP, %).

Таблица 1. Исследуемые образцы видов родов *Oxytropis* и *Astragalus*

Виды	Место и год сбора, коллектор (акроним гербария)
Род <i>Oxytropis</i> DC.	
Подрод <i>Phacoxytropis</i> Bunge	
Секция <i>Mesogaea</i> Bunge	
<i>O. deflexa</i> (Pall.) DC.	Бурятия, Джергинский заповедник. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. glabra</i> (Lam.) DC.	Красноярский край, Шарыповский р-н, оз. Гнилое. 1981. Тушицына Н.Н. (KRAS)
Секция <i>Janthina</i> Bunge	
<i>O. coerulea</i> (Pall.) DC.	Иркутская обл., оз. Байкал, Приольхонье. 1993. Шевырева Н.А., Коновалова Т.Ю. (MHA)
<i>O. filiformis</i> DC.	Забайкальский край, Агинский р-н, оз. Ножий. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. mandshurica</i> Bunge	Приморский край, Сихотэ-Алинский заповедник. 2010. Пименова Е.А.
Подрод <i>Oxytropis ex genere Oxytropis</i> DC.	
Секция <i>Arctobia</i> Bunge	
<i>O. czukotica</i> Jurtz.	Окр. г. Магадан, верховья р. Медвежка. 2014. Андриянова Е.А.
<i>O. exserta</i> Jurtz.	Камчатка, Олюторский р-н, р. Ачайваем. 1975. Харкевич С.С., Буш Т.Г. (MHA)
<i>O. gorodkovii</i> Jurtz.	Чукотка, р. Путукунейвеем. 1972. Юрцев Б.А. (LE)
<i>O. kamtschatica</i> Hult.	Камчатка, влк. Ключевская сопка. 2005. Верхолат В.П.
<i>O. longipes</i> Fisch. (= <i>O. Exserta</i> Jurtz.)	Магаданская обл., Колымское нагорье, пойма р. Олы. 1972. Петровский В.В. (LE)
<i>O. mertensiana</i> Turcz.	Чукотка, Анадырское нагорье. 1968. Юрцев Б.А. (LE)
<i>O. nigrescens</i> (Pall.) Fisch.	Камчатка, влк. Ильинский. 1986. Шаульская Н.А. (MHA)
<i>O. pumilio</i> (Pall.) Ledeb.	Курильские о-ва, о-в Атласова, влк. Алаид. 2004. Верхолат В.П., Гришин С.Ю.
<i>O. revoluta</i> Ledeb.	Камчатка, Толбачинский дол в р-не г. Высокой. 2005. Верхолат В.П.
Секция <i>Chrysanthia</i> Vass.	
<i>O. pallasii</i> Pers.	Крымская обл., г. Демерджи. 1989. Бялт В.В. (LE)
<i>O. pilosa</i> (L.) DC.	1. Хакасия, оз. Беле. 2006. Кандалова. (KRAS) 2. Красноярский край, р. Енисей. 1987. Ефименко. (KRAS) 3. Красноярский край, Шарыповский р-н. 1980. Тушицына Н.Н. (KRAS)
Секция <i>Gloeocephala</i> Bunge	
<i>O. borealis</i> DC.	Чукотка, зал. Лаврентия. 1971. Секретарева Н.А., Сытин А.К., Юрцев Б.А. (LE)
<i>O. middendorffii</i> subsp. <i>anadyrensis</i> (Vass.) Jurtz.	Чукотка, р. Амгуэмы. 1979. Жмылев П.Ю., Норкина Е.Ю., Плиева Т.В., Юрцев Б.А. (LE)
Секция <i>Orobia</i> Bunge	
<i>O. adamsiana</i> (Trautv.) Jurtz.	Таймыр, р. Котуй. 2005. Поспелова Е.Б. (MHA)
<i>O. alpina</i> Bunge	Алтай, Кош-Агачский р-н, р. Тархата. 1982. Ломоносова М., Ваняев А. (MHA)
<i>O. ambigua</i> (Pall.) DC.	Алтай, Кош-Агачский р-н, р. Актру. 1997. Шевырева Н.А., Коновалова Т.Ю. (MHA)
<i>O. ammophila</i> Turcz.	Красноярск, Академгородок. 2004. Степанов Н.В.

Таблица 1. Продолжение

Виды	Место и год сбора, коллектор (акроним гербария)
<i>O. argentata</i> (Pall.) Pers.	Алтай, Улаганский р-н, р. Чулышман. 1989. Шевырева Н.А., Коновалова Т.Ю. (MHA)
<i>O. calcareorum</i> N.S. Pavlova	Сахалин, г. Вайда, верховья р. Витница. 2006. Баркалов В.Ю.
<i>O. campanulata</i> Vass.	Красноярский край, Емельяновский р-н, окр. с. Замятине. 2006. Антипова Е.М. (KRAS)
<i>O. campestris</i> (L.) DC. subsp. <i>campestris</i>	Италия, Л'Аквила, г. Монте-Аквила. 2000. (семена получены из Universita degli Studi di L'Aquila)
<i>O. candicans</i> (Pall.) DC.	Красноярский край, Емельяновский р-н, с. Погорелка. 1998. Антипова Е.М. (KRAS)
<i>O. czekanowskii</i> Jurtz.	Таймыр, Афанасьевские озера. 2006. Поспелов И.Н. (MHA)
<i>O. evenorum</i> Jurtz. et Khokhr.	1. Камчатка, перевал Гаргачан. 2000. Якубов В.В. 2. Окр. г. Магадан, верховья р. Медвежка. 2014. Андриянова Е.А. 3. Окр. г. Магадан, о-в Недоразумения. 2014. Андриянова Е.А.
<i>O. hidakamontana</i> Miyabe et Tatew.	Курильские о-ва, о-в Шикотан, г. Шикотан. 2007. Баркалов В.Ю.
<i>O. hippolyti</i> Boriss.	Башкирия, Альшеевский р-н, р. Мияки. 1995. Паженков А., Бадонова О. (LE)
<i>O. kusnetzovii</i> Kryl. & Steinb.	Хакасия, пос. Приисковый, р. Верка. 1987. Безруких. (KRAS)
<i>O. maydelliana</i> Trautv.	Чукотка, оз. Коолень. 1970. Кожевников Ю.П., Нечаев А.А., Юрцев Б.А. (LE)
<i>O. ochotensis</i> Bunge	Камчатка, влк. Ключевская сопка. 2005. Верхолат В.П.
<i>O. retusa</i> Matsum.	Курильские о-ва, о-в Парамушир, бухта Шелехова. 1997. Илюшко М.В.
<i>O. rishiriensis</i> Matsum.	Курильские о-ва, о-в Итуруп. 1981. Егорова Е. (MHA)
<i>O. ruthenica</i> Vass.	Приморский край, Партизанский р-н, порт Врангель. 1985. Шанцер И.А. (MHA)
<i>O. sachalinensis</i> Miyabe et Tatew.	Сахалин, п-ов Шмидта, р. Талики. 2001. Баркалов В.Ю.
<i>O. semiglobosa</i> Jurtz.	Чукотка, р. Кувет, ручей Волчок. 1966. Максименко Л., Юрцев Б.А. (LE)
<i>O. sordida</i> (Willd.) Pers. subsp. <i>schamurinii</i> Jurtz.	О-в Врангеля, бухта Сомнительная. 1971. Тараксина Н.Н., Штейнберг О.Д. (LE)
<i>O. spicata</i> (Pall.) O. et B. Fedtsch.	Свердловская обл., р. Реж, окр. д. Голендухино. 2013. Князев М.С. (LE)
<i>O. strobilacea</i> Bunge	1. Тыва, окр. с. Сесерлик. 2007. Якубов В.В. 2. Бурятия, Джергинский заповедник. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. suprajenissejensis</i> Kuvajev & Sonnikova	1. Красноярский край, Саяно-Шушенский заповедник. 1995. Сонникова А.Е. (KRAS) 2. Красноярский край, долина Саянского водохранилища. 1995. (KRAS)
<i>O. todomoshiriensis</i> Miyabe et Miyake	Сахалинская обл., о-в Монерон. 1949. Попов М.Г. (LE)
<i>O. uralensis</i> (L.) DC.	1. Новосибирская обл., между гг. Бердск и Искитим. 1946. Ревердатто В.В. (KRAS) 2. Коми, Троицко-Печорский р-н, р. Ильч. 1992. Лавренко А.Н., Улле З.Г., Сердитов Н.П., Кустышева А.А. (LE)
<i>O. vassilczenkoi</i> Jurtz.	Магаданская обл., р. Правые Имляки. 1976. Антропова Г.Л., Хохряков А.П. (LE)

Таблица 1. Окончание

Виды	Место и год сбора, коллектор (акроним гербария)
Секция Ortholoma Bunge	
<i>O. floribunda</i> (Pall.) DC.	Оренбургская обл., Беляевский р-н. 1990. Шевырева Н.А., Коновалова Т.Ю. (MHA)
Секция Polyadena Bunge	
<i>O. muricata</i> (Pall.) DC.	1. Красноярский край, Ширинский р-н, пос. Жемчужный. 1986. Гладышева. (KRAS) 2. Красноярский край, Ужурский р-н, р. Парная. 1965. (KRAS)
<i>O. varlakovii</i> Serg.	Забайкальский край, Агинский р-н, оз. Ножий. 2014. Санданов Д.В.
Секция Verticillares DC.	
<i>O. chankaensis</i> Jurtz.	Приморский край, оз. Ханка. 2003. Холина А.Б.
<i>O. lanata</i> (Pall.) DC.	Бурятия, оз. Байкал, окр. пос. Горячинск. 2010. Наконечная О.В.
<i>O. mongolica</i> Kom.	Тыва, Тандинский р-н, оз. Хадан. 2010. Крюкова. (KRAS)
<i>O. myriophylla</i> (Pall.) DC.	Забайкальский край, Могоитуйский р-н, окр. с. Цугол. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. oxyphylla</i> (Pall.) DC.	1. Забайкальский край, окр. г. Чита. 2012. Аистова Е.В. 2. Забайкальский край, Агинский р-н, оз. Ножий. 2014. Санданов Д.В. 3. Бурятия, Селенгинский район, окр. с. Новоселенгинск. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. scheludjakovae</i> Karav. & Jurtz.	Магаданская обл., Омсукчанский р-н, окр. пос. Меренга. 1972. Хохряков А.П. (MHA)
<i>O. stukovii</i> Palibin.	Забайкальский край, Агинский р-н, оз. Ножий. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. sverdrupii</i> Lyngé	Чукотка, о-в Айон, р. Утатгыр. 1968. Левичев И.Г., Коробков А.А., Юрцев Б.А. (LE)
Секция Xerobia Bunge	
<i>O. caespitosa</i> (Pall.) Pers.	1. Бурятия, Селенгинский р-н, окр. с. Новоселенгинск. 2014. Санданов Д.В. 2. Забайкальский край, Могоитуйский р-н, окр. с. Цугол. 2014. Санданов Д.В.
<i>O. intermedia</i> Bunge	Тыва, р. Енисей. 2007. Якубов В.В.
Род <i>Astragalus</i> L.	
<i>A. chinensis</i> L. fil.	Приморский край, бухта Речица. 2006. Верхолат В.П.
<i>A. davuricus</i> (Pall.) DC.	Приморский край, п-ов Муравьева-Амурского. 2006. Нечаев В.А.

Примечание. Расшифровка акронима гербария дана в разделе МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Названия подродов и секций приведены по [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получены нуклеотидные последовательности межгенных спайсеров *trnH-psbA*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хпДНК для 111 образцов видов рода *Oxytropis* и двух образцов видов рода *Astragalus*. Изменчивость данных регионов хпДНК у видов рода *Oxytropis* неодинакова. Длина последова-

тельностей одного региона у образцов разная вследствие присутствия инсерций/делеций (инделей) и моно- и динуклеотидных повторов. Так, длина *trnH-psbA* варьирует от 415 (*O. adamsiana*, *O. czeckanowskii*, *O. caespitosa*) до 433 пн (*O. ambigua*, *O. kusnetzovii*), различия обусловлены наличием небольших инделей (4–7 нуклеотидов) и двух ва-

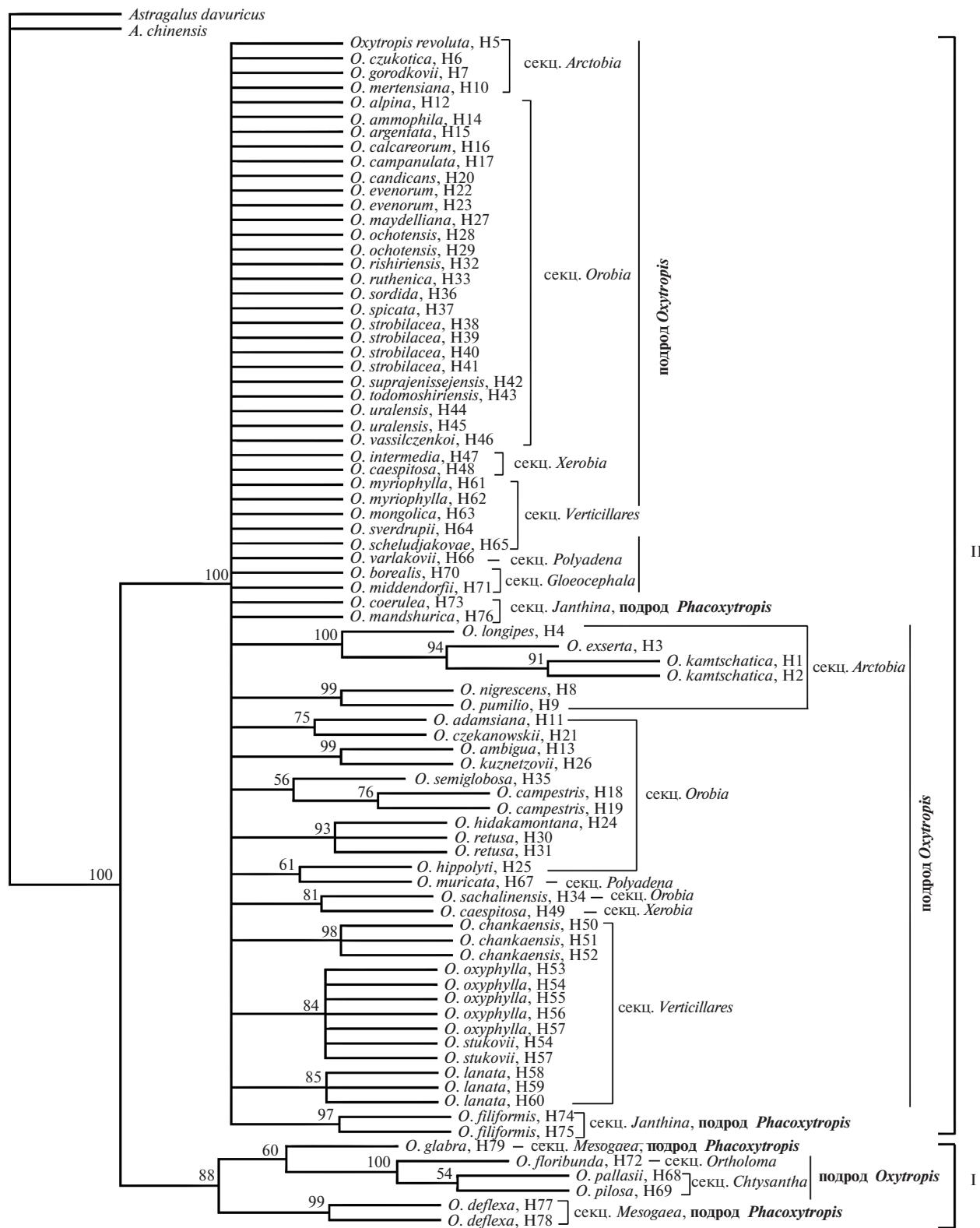


Рис. 1. МР-дерево представителей рода *Oxytropis* (длина — 559 шагов, индекс соответствия CI — 0.6941, индекс гомоплазии HI — 0.3059, индекс удерживания RI — 0.8025). В качестве внешней группы использованы последовательности *Astragalus davuricus* и *A. chinensis*. Цифрами в узлах ветвлений обозначены значения индекса бутстрепа (выше 50%). Названия секций и подродов приведены по [6]. Внизу указаны единицы измерения длины ветвей — 10 шагов.

риабельных мононуклеотидных повторов: поли-А мотив (A_8 – A_{14}) и поли-Т (T_7 – T_{14}). В последовательностях этого региона обнаружены 13 вариабельных сайтов, из них 9 информативны согласно методу максимальной экономии. У большинства исследованных видов *Oxytropis* межгенный спейсер *trnH*–*psbA* идентичен и идентифицирует только 25 видов из 59 исследованных. Длина региона *trnL*–*trnF* у разных образцов варьирует от 535 до 765 пн вследствие присутствия мононуклеотидного поли-Т мотива (T_8 – T_{13}), динуклеотидного АТ-мотива, в котором от пяти до 19 повторов, и инделей, как коротких (4–7 нуклеотидов), так и протяженных (более 100 нуклеотидов). Наименьшая длина этого региона у *O. pumilio* и *O. nigrescens* из-за делеции 215 нуклеотидов, а наибольшая – у *O. deflexa*, которая обусловлена вставкой 106 нуклеотидов. В 23 сайтах обнаружены нуклеотидные замены, из них 16 информативны согласно методу максимальной экономии. По нуклеотидным последовательностям межгенного спейсера *trnL*–*trnF* можно дифференцировать 31 вид. Длина *trnS*–*trnG* у исследуемых образцов изменяется от 1079 (*O. glabra*) до 1293 пн (*O. floribunda*). Кроме вариабельных мотивов поли-А (8–18 повторов) и четырех поли-Т (7–15 повторов), коротких инделей (4–19 нуклеотидов), у некоторых видов также присутствуют достаточно протяженные вставки или делеции. Так, только у *O. deflexa* и *O. glabra* из всех исследуемых видов в регионе *trnS*–*trnG* выявлена делеция 255 нуклеотидов. У видов *O. kamtschatica*, *O. exserta* и *O. longipes* имеется вставка 99 нуклеотидов, у *O. pallasii*, *O. pilosa* и *O. floribunda* – вставка 104 нуклеотидов, отсутствующие у всех остальных. В последовательностях данного региона выявлены 58 полиморфных сайтов, из них 36 информативны согласно методу максимальной экономии. Межгенный спейсер *trnS*–*trnG* типирует 46 видов *Oxytropis* и является более информативным в сравнении с двумя другими. Ранее отмечалось [33], что *trnS*–*trnG* имеет высокую разрешающую способность для выяснения отношений близкородственных таксонов Fabaceae, например у видов рода *Glycine* подрода *Soja* [34] и рода *Lathyrus* [35].

Длина выравненных матриц регионов *trnH*–*psbA*, *trnL*–*trnF* и *trnS*–*trnG*, включая индели, составила 461, 864 и 1470 пн соответственно. Общая длина объединенных последовательностей трех регионов хпДНК составила 2795 пн. Обнаружено 94 вариабельных сайта, из них 61 информативен согласно методу максимальной экономии. Филогенетические деревья, построенные разными методами (MP, NJ, ML) с использованием в качестве внешней группы видов сестринского рода *Astragalus*, не различались по топологии. Виды рода *Oxytropis* формируют две клады: в кладе I с высокой степенью поддержки (BP 88%) объединены виды *O. pallasii* и *O. pilosa* секции *Chrysanthia*,

O. floribunda секции *Ortholoma* подрода *Oxytropis*, *O. glabra* и *O. deflexa* секции *Mesogaea* подрода *Phacoxytropis*, в кладе II (BP 100%) – все другие (рис. 1). Согласно результатам AMOVA, более 76% всей генетической изменчивости приходится на изменчивость между двумя кладами. Филогенетические взаимоотношения между большинством таксонов в кладе II остаются неразрешенными, но при этом можно выделить статистически поддержаные группы, образованные видами одной секции (*O. longipes*, *O. exserta* и *O. kamtschatica* (BP 100%) и *O. nigrescens*, *O. pumilio* (BP 99%) секции *Arctobia*; *O. adamsiana* и *O. czekanowskii* (BP 75%), *O. ambigua* и *O. kusnetzovii* (BP 99%), *O. semi-globosa* и *O. campestris* (BP 56%), *O. hidakamontana* и *O. retusa* (BP 93%) секции *Orobia*; все гаплотипы *O. chankaensis* (BP 98%), *O. lanata* (BP 85%), *O. oxyphylla* и *O. stukovii* (BP 84%) секции *Verticillares*; образцы *O. filiformis* (BP 97%) секции *Janthina*) или видами из разных секций – *O. hippolyti* секции *Orobia* и *O. muricata* секции *Polyadena* (BP 61%); *O. sachalinensis* секции *Orobia* и *O. caespitosa* секции *Xerobia* (BP 81%).

Анализ 111 последовательностей представителей рода *Oxytropis* выявил 79 (H1–H79) гаплотипов (табл. 2). Значения дивергенции между нуклеотидными последовательностями (*p*-дистанции) изменялись от 0.000 до 0.020. У видов, имеющих несколько гаплотипов, дистанции в основном были равны нулю, кроме *O. evenorum* и *O. uralensis* (0.001), *O. strobilacea* (0.001, 0.002), *O. caespitosa* и *O. deflexa* (0.002). Межвидовые дистанции в разных секциях, учитывая виды, самостоятельность которых не подвергается сомнению, были разными: *Arctobia* – 0.001–0.005, *Orobia* – 0.000–0.007, *Xerobia* – 0.001 и 0.002, *Verticillares* – 0.000–0.004, *Polyadena* – 0.001, *Chrysanthia* и *Gloeoccephala* – 0.000, *Janthina* – 0.002, *Mesogaea* – 0.007 и 0.008. Наибольшие значения дивергенции определены между *O. floribunda* секции *Ortholoma* и видами: *O. spicata* (0.020) секции *Orobia*, *O. kamtschatica* (0.019), *O. exserta* (0.019) и *O. longipes* (0.019) секции *Arctobia*. Для выявления генеалогических связей между гаплотипами построена сеть (рис. 2), в которой выделяются две разделенные большим количеством мутационных шагов гаплогруппы, соответствующие полученным в филогенетическом анализе кладам I и II, и в гаплогруппе II также можно выделить несколько подгрупп.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей трех межгенных спейсеров *trnH*–*psbA*, *trnL*–*trnF* и *trnS*–*trnG* хпДНК у 111 растений рода *Oxytropis* и двух образцов *Astragalus* (рис. 1) согласуются с ранее высказанными представлениями [17–19] о монофилии

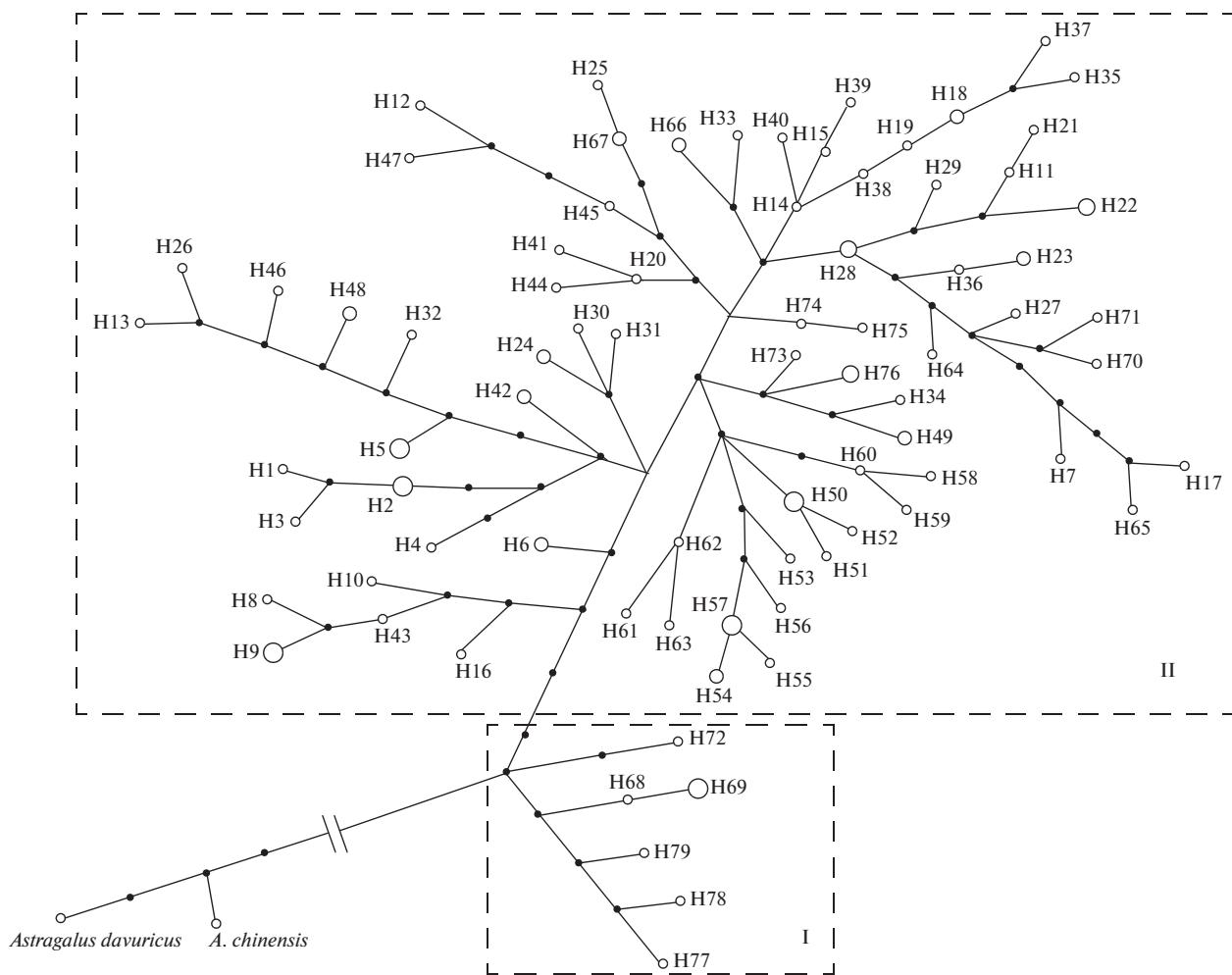


Рис. 2. Генеалогическая сеть гаплотипов представителей рода *Oxytropis*, построенная с помощью MJ-метода. Размер окружностей отражает частоту встречаемости гаплотипов, маленькие черные кружки — медианные вектора. В качестве внешней группы использованы последовательности *Astragalus davuricus* и *A. chinensis*. H1—H79 — гаплотипы видов *Oxytropis* см. в табл. 2.

рода *Oxytropis*. В работе исследованы виды рода *Oxytropis* 10 секций двух подродов — *Oxytropis* и *Phacoxytropis*, представители которых распределились в двух кладах с высокой степенью дифференциации между ними ($F_{ST} = 76.93$), что свидетельствует об их значительной генетической обособленности (рис. 1). Виды *O. glabra* и *O. deflexa* секции *Mesogaea* подрода *Phacoxytropis*, а также *O. floribunda* секции *Ortholoma*, *O. pallasii* и *O. pilosa* секции *Chrysanthra* подрода *Oxytropis* образуют кладу I (рис. 1). В сети генеалогических связей гаплотипов (рис. 2) ближе к видам рода *Astragalus* находится гаплогруппа I, соответствующая в филогенетическом анализе кладе I. Отдельную ветвь дает *O. floribunda* (гаплотип H72) секции *Ortholoma*, другую образуют виды *O. pallasii* (H68) и *O. pilosa* (H69) секции *Chrysanthra*, *O. glabra* (H77, H78) и *O. deflexa* (H79) секции *Mesogaea*. Все эти виды — растения с хорошо развитыми стебля-

ми, габитуально сходные с астрагалами. Многие авторы [3, 36, 37] отмечали, что первичные остролодки были многолетними мезофитами с развитыми многолисточковыми побегами, опушением из простых волосков, светлыми цветками, коротким остроконечием лодочки и одногнездными бобами — именно такими признаками характеризуются *O. glabra* и *O. deflexa*. В.И. Грубов [10] считал необоснованным выделение остролодок с желтыми цветками и развитыми стеблями в особую секцию *Chrysanthra*, так как виды с желтым венчиком принципиально ничем другим не отличаются от видов с синим венчиком из секции *Mesogaea*, поэтому *O. pilosa* была включена в последнюю секцию. Автор также отмечал, что такие виды следует относить к подроду *Oxytropis* (= *Phacoxytropis* по [6]), так как боб у них характеризуется ложной нижней перегородкой, обозначенной вдавлением брюшного шва, и они, по

Таблица 2. Гаплотипы видов *Oxytropis*, выявленные на основе сравнения нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров *trnH-psbA*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хлДНК

Вид	Гаплотип	Номер доступа в EMBL/GenBank <i>trnH-psbA/trnL-trnF/trnS-trnG</i>
<i>O. kamtschatica</i>	H1	LM653173/LM653136/LM653210
	H2	LM653174/LM653137/LM653211
<i>O. exserta</i>	H3	LN898512/LN898524/LN898636
<i>O. longipes</i>	H4	LN898511/LN898623/LN898635
<i>O. revoluta</i>	H5	LM653177/LM653140/LM653214
<i>O. czukotica</i>	H6	LN898485/LN898597/LN898559
<i>O. gorodkovii</i>	H7	LN898517/LN898529/LN898641
<i>O. nigrescens</i>	H8	LN898523/LN898535/LN898647
<i>O. pumilio</i>	H9	LM653191/LM653154/LM653228
<i>O. mertensiana</i>	H10	LN898522/LN898534/LN898646
<i>O. adamsiana</i>	H11	LN898575/LN898537/LN898649
<i>O. alpina</i>	H12	LN898576/LN898538/LN898650
<i>O. ambigua</i>	H13	LN898577/LN898539/LN898651
<i>O. ammophila</i>	H14	LN898507/LN898619/LN898631
<i>O. argentata</i>	H15	LN898578/LN898540/LN898652
<i>O. calcareorum</i>	H16	LN898494/LN898606/LN898568
<i>O. campanulata</i>	H17	LN898506/LN898618/LN898630
<i>O. campestris</i>	H18	LM653194/LM653157/LM653231
	H19	LM653196/LM653159/LM653233
<i>O. candicans</i>	H20	LN898500/LN898612/LN898624
<i>O. czekanowskii</i>	H21	LN898579/LN898541/LN898653
<i>O. evenorum</i>	H22	LM653165/LM653128/LM653202
	H23	LN898491/LN898603/LN898565
<i>O. hidakamontana</i>	H24	LM653188/LM653151/LM653225
<i>O. hippolyti</i>	H25	LN898582/LN898544/LN898656
<i>O. kusnetzovii</i>	H26	LN898504/LN898616/LN898628
<i>O. maydelliana</i>	H27	LN898509/LN898621/LN898633
<i>O. ochotensis</i>	H28	LM653168/LM653131/LM653205
	H29	LM653169/LM653132/LM653206
<i>O. retusa</i>	H30	LM653190/LM653153/LM653227
	H31	LN898493/LN898605/LN898567
<i>O. rishiriensis</i>	H32	LN898514/LN898526/LN898638
<i>O. ruthenica</i>	H33	LN898515/LN898527/LN898639
<i>O. sachalinensis</i>	H34	LM653184/LM653147/LM653221
<i>O. semiglobosa</i>	H35	LN898520/LN898532/LN898644
<i>O. sordida</i>	H36	LN898521/LN898533/LN898645
<i>O. spicata</i>	H37	LN898584/LN898546/LN898658
<i>O. strobilacea</i>	H38	LM653180/LM653143/LM653217
	H39	LM653181/LM653144/LM653218
	H40	LM653182/LM653145/LM653219
	H41	LN898490/LN898602/LN898564
<i>O. suprajenissejensis</i>	H42	LN898498/LN898610/LN898572
<i>O. todomoshiriensis</i>	H43	LN898510/LN898622/LN898634

Таблица 2. Окончание

Вид	Гаплотип	Номер доступа в EMBL/GenBank <i>trnH-psbA/trnL-trnF/trnS-trnG</i>
<i>O. uralensis</i>	H44	LN898580/LN898542/LN898654
	H45	LN898581/LN898543/LN898655
<i>O. vassilczenkoi</i>	H46	LN898519/LN898531/LN898643
<i>O. intermedia</i>	H47	LM653183/LM653146/LM653220
<i>O. caespitosa</i>	H48	LN898476/LN898588/LN898550
	H49	LN898477/LN898589/LN898551
<i>O. chankaensis</i>	H50	FN808319/FN808326/FN808333
	H51	FN808321/FN808328/FN808335
	H52	FN808324/FN80833/FN808338
<i>O. oxyphylla</i>	H53	FR694955/FR694956/FR694957
	H54	LN898486/LN898598/LN898560
	H55	LN898487/LN898599/LN898561
	H56	LN898488/LN898600/LN898562
	H57	LN898489/LN898601/LN898563
<i>O. stukovii</i>	H54	LN898478/LN898590/LN898552
	H57	LN898479/LN898591/LN898553
<i>O. lanata</i>	H58	LM653185/LM653148/LM653222
	H59	LM653186/LM653149/LM653223
	H60	LM653187/LM653150/LM653224
<i>O. myriophylla</i>	H61	LN898480/LN898592/LN898554
	H62	LN898481/LN898593/LN898555
<i>O. mongolica</i>	H63	LN898501/LN898613/LN898625
<i>O. sverdrupii</i>	H64	LN898508/LN898620/LN898632
<i>O. scheludjakovae</i>	H65	LN898574/LN898536/LN898648
<i>O. varlakovii</i>	H66	LN898482/LN898594/LN898556
<i>O. muricata</i>	H67	LN898502/LN898614/LN898626
<i>O. pallasii</i>	H68	LN898583/LN898545/LN898657
<i>O. pilosa</i>	H69	LN898495/LN898607/LN898569
<i>O. borealis</i>	H70	LN898518/LN898530/LN898642
<i>O. middendorffii</i>	H71	LN898513/LN898525/LN898637
<i>O. floribunda</i>	H72	LN898585/LN898547/LN898659
<i>O. coerulea</i>	H73	LN898516/LN898528/LN898640
<i>O. filiformis</i>	H74	LN898483/LN898595/LN898557
	H75	LN898484/LN898596/LN898558
<i>O. mandshurica</i>	H76	LM653162/LM653125/LM653199
<i>O. deflexa</i>	H77	LN898474/LN898586/LN898548
	H78	LN898475/LN898587/LN898549
<i>O. glabra</i>	H79	LN898505/LN898617/LN898629

Примечание. Жирным шрифтом отмечены одинаковые (общие) гаплотипы у разных видов.

существу, являются одногнездными. На этот признак обращал внимание еще А. Бунге, который часть видов прямо включал в секцию *Mesogaea*, а другие – в секцию *Ortholoma*, в том числе

O. pilosa [8]. Позднее Л.И. Малышев [2] при изучении фенетики подродов и секций рода *Oxytropis* пришел к выводу о справедливости выделения секции *Chrysanthia* и отнесения ее к подроду

Oxytropis. Совершенно иное распределение секций и видов приводится во “Флоре Китая” — секции *Mesogaea* и *Janthina* входят в подрод *Oxytropis*, виды *O. deflexa*, *O. glabra* и *O. pilosa* — в секцию *Mesogaea*, а *O. filiformis* и *O. coerulea* (синоним *O. mandshurica*) — в секцию *Eumorpha* [1]. Исследование эволюционных отношений арктических видов рода *Oxytropis* по данным ITS ядерной ДНК [17] показало генетическую близость видов *O. deflexa*, *O. glabra* и *O. pilosa* секции *Mesogaea* подрода *Phacoxytropis*. Проведенный нами анализ хпДНК показал близость секций *Ortholoma*, *Chrysanthia* и *Mesogaea*, и, учитывая морфологическое сходство видов этих секций [8, 10] и полученные ранее молекулярные данные [17], мы считаем, что секции *Ortholoma* и *Chrysanthia* также следует отнести к подроду *Phacoxytropis*.

Виды *O. coerulea* (гаплотип H73), *O. filiformis* (H74, H75) и *O. mandshurica* (H76) секции *Janthina* подрода *Phacoxytropis* значительно удалены от секции *Mesogaea* и располагаются в гаплогруппе II внутри большой группы гаплотипов представителей секции *Orobia* (рис. 2). Возможно, это обусловлено происхождением секции *Janthina*. Представителям этой секции (это травянистые многолетние розеточные растения) свойственны некоторые дериватные признаки — опушение из черных волосков, слабо выраженный полихромизм в окраске венчика и вторичное упрощение боба, выражющееся в исчезновении перегородок [4, 9, 36, 37]. Фенетический анализ рода *Oxytropis* позволил Л.И. Малышеву [2] предположить, что подрод *Phacoxytropis* может быть производным от подрода *Oxytropis*. Однако анализ гаплотипической сети (рис. 2) показывает, что именно секция *Janthina* может быть производной от секции *Orobia* подрода *Oxytropis*, что противоречит утверждению Л.И. Малышева [2], а также предположению А.В. Положий [37], что исходными для рода *Oxytropis* были виды подрода *Phacoxytropis*, которые дали начало видам секции *Orobia*. Последнее может быть справедливо только в отношении видов секции *Mesogaea*, но не *Janthina*. @Большая генетическая близость секции *Janthina* к секциям подрода *Oxytropis*, чем к секции *Mesogaea* подрода *Phacoxytropis* (рис. 1, 2), позволяет нам сделать вывод о необходимости отнести секцию *Janthina* в подрод *Oxytropis*. Кроме того, выявленные молекулярные различия гаплотипов *O. coerulea* (H73) и *O. mandshurica* (H76) — четыре нуклеотидные замены, короткие индели (1 и 6 нуклеотидов), указывают на значительное расхождение их хлоропластных геномов. Дивергенция между нуклеотидными последовательностями этих видов 0.002, что соответствует межвидовым значениям в секции *Janthina*. Все это подтверждает видовую самостоятельность *O. mandshurica*, принятую в известных таксономических обработках рода *Oxytropis* [4, 6, 8, 9].

Поэтому использование названия *O. mandshurica* в качестве синонима вида *O. coerulea* [1] является неверным.

Расположение гаплотипов видов секции *Arctobia* (H1–H10, кроме H7) в сети (рис. 2) в основании гаплогруппы II согласуется с мнением Б.А. Юрцева [3] об определенном родстве их с остролодками подрода *Phacoxytropis*. Он предположил, что эта метаарктическая амфиберингийская секция представляет древнюю (криофильную) ветвь эволюции рода, обособившуюся от сравнительно примитивных факоидных остролодок еще, вероятно, в раннем неогене в верхних поясах воздымавшихся гор “Азиатской Берингии”, а малое число хромосом косвенно свидетельствует о древности секции. Существуют противоречивые мнения о взаимоотношениях видов *O. nigrescens* (Pall.) Fisch., *O. czukotica* Jurtz. и *O. pumilio* (Pall.) Ledeb. подсекции *Arctobia* ряда *Nigrescens* Jurtz. В.Н. Ворошилов [38] приводит *O. pumilio* как синоним *O. tschuktschorum* Jurtz. (= *O. czukotica* Jurtz.) и считает его подвидом *O. nigrescens*. S.L. Welsh [39] приводит *O. czukotica* как разновидность *O. nigrescens*, а В.В. Якубов и О.А. Чернягина [40] полагают, что *O. czukotica* никак не может рассматриваться не только в ранге самостоятельного вида, но даже и как подвид *O. pumilio*, и приводят *O. czukotica* как синоним *O. pumilio*. Однако вышеуказанные виды в других обработках представлены в ранге самостоятельных видов [3–6, 41]. Кроме того, *O. nigrescens* и *O. pumilio* являются дипloidами ($2n = 16$), а для *O. czukotica* установлено наличие кариологических рас ($2n = 16, 32, 48$) [4]. Морфологическое сходство этих трех видов может быть следствием параллелизма, или гомологии, подобные явления отмечены в разных секциях рода [2, 41, 42]. Адаптация к сходным суровым условиям (истинно арктическим и/или альпийским) может приводить к проявлениям конвергенции в трансформации морфотипа [41]. Анализ хпДНК данных (рис. 1, 2) указывает на генетическую близость *O. nigrescens* (H8) и *O. pumilio* (H9), гаплотипы которых различаются только количеством повторов в поли-А мотиве и присутствием двух коротких инделей (6 нуклеотидов), *p*-дистанции 0.000. Кроме того, только у этих видов из всех исследованных секции *Arctobia* в спейсере *trnL*–*trnF* выявлена делеция 215 нуклеотидов. Для уточнения таксономического статуса *O. nigrescens* и *O. pumilio* необходимо провести популяционный анализ, как это было сделано нами ранее [43] для близкородственных видов рода *Iris*. Видовая самостоятельность *O. czukotica* подтверждается молекулярными данными: нуклеотидные последовательности трех спейсеров хпДНК *O. czukotica* отличаются присутствием трех нуклеотидных замен, количеством мононуклеотидных повторов (поли-А и поли-Т) и двумя вставками — короткой (4 нуклеотида) и протяженной (168 нуклеотидов),

которые отсутствуют у *O. nigrescens* и *O. pumilio*, *p*-дистанции (0.001) соответствуют межвидовым значениям в секции *Arctobia*. Кроме того, на филогенетическом дереве и в сети (рис. 1, 2) *O. czukotica* не группируется вместе с *O. nigrescens* и *O. pumilio*. Очевидно, что *O. czukotica* является самостоятельным видом, который признан ведущими морфологами [3–6, 41]. В подгруппу гаплотипов *O. nigrescens* (H8), *O. pumilio* (H9) и *O. mertensiana* (H10) секции *Arctobia* попадают гаплотипы *O. calcareorum* (H16) и *O. todomoshirien-sis* (H43) секции *Orobia* – эндемики островов Сахалин и Монерон соответственно. Эти виды по морфологическим признакам (размер лодочки до 1 мм, бобы полудвугнездные с узкой спинной и широкой брюшной перегородкой) [4] близки видам секции *Arctobia*.

Не совсем соответствуют полученные нами молекулярные данные систематическому распределению и взаимоотношениям представителей двух близких подсекций *Kamtschaticae* и *Revolutae*. Б.А. Юрцев [3] на основе морфологического сходства, особенно в фазе цветения, объединял *O. exserta* и *O. revoluta* в подсекцию *Revolutae* и предполагал, что *O. revoluta* может быть типом, производным от *O. exserta*. Фитогеографический анализ секции *Arctobia* с применением геоинформационных технологий [44] и изучение изменчивости аллозимных маркеров [45] показали близость *O. kamtschatica* и *O. revoluta* и обоснованное положение *O. exserta*. Однако морфологические признаки, как и изоферменты в определенной мере, находятся под влиянием отбора, что может приводить к конвергентному сходству таксонов. Результаты анализа хпДНК показывают, что наиболее генетически близким видом к *O. exserta* является *O. kamtschatica* (рис. 1, 2). На филогенетическом дереве *O. kamtschatica* образует статистически поддержанную (ВР 100%) группу с *O. exserta* и *O. longipes*, а вид *O. revoluta* значительно удален от них (рис. 1). Анализ генеалогических связей гаплотипов также показывает подобную картину – гаплотип *O. revoluta* (H5) не только удален от гаплотипов *O. kamtschatica* (H1, H2), *O. exserta* (H3) и *O. longipes* (H4), но и находится на другой ветви (рис. 2). У трех последних видов в межгенном спейсере *trnS*–*trnG* имеется вставка 99 нуклеотидов, отсутствующая у *O. revoluta* и всех других исследованных видов рода *Oxytropis*. Следует отметить, что гербарный образец *O. longipes* из Магаданской области был определен В.В. Петровским в 1972 г. (LE), позднее в 1979 г. Б.А. Юрцев [3] дал этому виду новое название *O. exserta* и отметил, что камчатская популяция *O. exserta* отличается от северохотской по амплитуде морфологической и экологической изменчивости. Анализ хпДНК также выявил различия – гаплотипы *O. exserta* и *O. longipes* различаются присутствием пяти нуклеотидных замен и двух коротких инделей (3 и 7

нуклеотидов), количеством повторов в поли-А, поли-Т и (АТ) мотивах, *p*-дистанция (0.001) соответствует межвидовым значениям в секции *Arctobia*. В данном случае необходимо дополнительно провести генетические и морфологические исследования представителей этих популяций.

Секция *Orobia* с ее огромным дизъюнктивным евразиатско-американским ареалом является наиболее крупной и, несомненно, одной из древних секций рода [36, 37]. Она включает около 110 видов в Евразии и Северной Америке и 64 в Азиатской России [6, 46] и является сложной как в таксономическом [41], так и в филогенетическом отношении [46]. Впервые система секции *Orobia* была представлена И.Т. Васильченко с соавторами [9], где виды были распределены в пять таксономических рядов. Однако сложности в разграничении видов по морфологическим признакам привели к тому, что в большинстве сводок [3–6, 10] распределение видов по рядам не приводится. На филогенетическом дереве взаимоотношения большинства из 28 исследуемых видов секции остаются неразрешенными (рис. 1). Выделяются несколько статистически поддержанных групп, в числе которых *O. hidakamontana* и *O. retusa* (ВР 93%). Уровень морфологического сходства этих видов позволил Т. Shimizu [47] считать *O. hidakamontana* разновидностью *O. retusa* – *O. retusa* var. *hidakamontana* (Miyabe et Tatew.) T. Shimizu. Фенетический анализ, проведенный Л.И. Малышевым [46], указывает на самостоятельность этих видов при достаточной их близости. Анализ нуклеотидных последовательностей трех межгенных спейсеров хпДНК не позволяет сделать однозначного вывода о таксономическом статусе *O. hidakamontana* и *O. retusa*, так как их гаплотипы отличаются только длиной моно- и динуклеотидных повторов, поэтому необходим популяционный анализ с привлечением расширенной выборки каждого из таксонов.

Расположение видов *O. sverdrupii* (H64) и *O. scheludjakovae* (H65) секции *Verticillares*, а также *O. borealis* (H70) и *O. middendorffii* subsp. *anadyren-sis* (H71) секции *Gloeocephala* внутри секции *Orobia* согласуется с мнением Юрцева [3, 41], что именно секция *Orobia* дала начало секциям *Verticillares* и *Gloeocephala*. В сети гаплотипы секции *Orobia* также связаны с гаплотипами видов *O. intermedia* (H47) и *O. caespitosa* (H48, H49) секции *Xerobia*, *O. varlakovii* (H66) и *O. muricata* (H67) секции *Polyadena*. Ранее с учетом морфологических признаков (наличие мутовчатых листьев, пахучих железок, признаки ксерофитизации растений) и специализации видов к определенным условиям обитания было установлено, что секции *Verticillares*, *Polyadena* и *Xerobia* являются дериватными, явно вторичного происхождения [3, 36, 37]. По результатам нашего исследования вышеуказанные секции могли произойти на основе видов

секции *Orobia* в ходе наложения процессов дивергентной эволюции (вероятно, виды секции *Gloeocerphala*), параллельной дифференциации с формированием гомологов (виды секций *Polyadena* и *Xerobia*) и сетчатой эволюции вследствие гибридогенеза (возможно, представители подсекции *Inaequiseptatae* секции *Verticillares*). Изучение фенетики [2] демонстрирует близость пяти секций: *Arctobia*, *Orobia*, *Gloeocerphala*, *Polyadena* и *Verticillares*, при этом секция *Xerobia* удалена от этой группы, что может быть связано с узкой приуроченностью видов этой секции к ксерофитным условиям и специфическими адаптивными особенностями их морфотипа [36].

Интересна ситуация с видами секции *Verticillares*. В отличие от двух арктических видов *O. sverdrupii* (Н64) и *O. scheludjakovae* (Н65) подсекции *Inaequiseptatae* секции *Verticillares*, расположенных среди гаплотипов видов секции *Orobia*, азиатские (южно-сибирские и дальневосточные) виды секции *Verticillares* представляют обособленную монофилетическую группу (рис. 2). Внутри этой группы виды располагаются согласно подсекциям: отдельную подгруппу составляют гаплотипы монотипной подсекции *Lanatae* с единственным видом *O. lanata* (Н58–Н60), другую – виды *O. chankaensis* (Н50–Н52) и *O. oxurphylla* (Н53–Н57) подсекции *Oxurphylliformes*, третью – виды *O. myriophylla* (Н61, 62) монотипной подсекции *Myriophyllae* и *O. mongolica* (Н63) подсекции *Salinae*. Гаплотипы другого представителя подсекции *Salinae* – *O. stukovii* идентичны гаплотипам *O. oxurphylla* (Н54, Н57). Расположение видов этой подсекции в разных подгруппах может быть связано с тем, что подсекция *Salinae*, как предположил Л.И. Малышев [11], состоит из гомологов, произошедших от разных родителей при освоении засоленных субстратов. Относительно амфиберингийской подсекции *Inaequiseptatae*, которой принадлежат почти все северные виды секции *Verticillares*, ранее неоднократно был отмечен высокий уровень сходства между большинством этих видов и представителями секции *Orobia*, что обусловлено, вероятно, давней гибридизацией [3, 4]. Фенетический анализ секции *Verticillares* также выявил значительную разобщенность видов подсекций *Inaequiseptatae* и *Oxurphylliformes* [11].

Таким образом, филогенетические отношения видов остролодок Азиатской России весьма осложнены проявлениями сетчатой и гомологичной эволюции. Тем не менее полученные нами результаты сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей межгенных спайсеров *trnH-psbA*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* хлДНК согласуются с ранее высказанными представлениями о монофилии рода *Oxytropis* и позволили прояснить филогенетические взаимоотношения некоторых видов и секций в подродах *Oxytropis* и *Phacoxytropis* и в роде *Oxytropis* в целом. Подроду *Phacoxytropis* корреспондирует лишь секция *Mesogaea*, а секция *Janthina* этого же подрода объединяется с секциями подрода *Oxytropis*. Секции *Chrysantha* и *Ortholoma* подрода *Oxytropis* не только близкородственны друг другу, но и формируют с видами подрода *Phacoxytropis* отдельную группу. По-видимому, секции *Chrysantha* и *Ortholoma* следует отнести в подрод *Phacoxytropis*, а секцию *Janthina* – в подрод *Oxytropis*. Анализ регионов хлДНК выявил молекулярные различия между *O. coerulea* и *O. mandshurica* секции *Janthina*, которые свидетельствуют о значительной дивергенции их хлоропластных геномов и видовой самостоятельности таксонов. Также подтверждена видовая самостоятельность *O. czukotica* секции *Arctobia*.

Авторы выражают свою искреннюю благодарность д.б.н. Баркалову В.Ю., к.б.н. Якубову В.В. (БПИ ДВО РАН), к.б.н. Верхолат В.П. (Ботанический сад-институт ДВО РАН), д.б.н. Степанову Н.В. (Сибирский федеральный университет) и Юзефовичу Ф.С. (Красноярский государственный педагогический университет) за помощь в сборе материала.

Работа поддержана грантом РФФИ (проект № 16-04-01399) и программой Президиума РАН (проект № 15-1-6-030).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhu X., Welsh S.L., Ohashi H. *Oxytropis* // Flora of China / Eds Wu Z.-Y. et al. 2010. V. 10. P. 453–500. (<http://www.efloras.org>)
2. Малышев Л.И. Фенетика подродов и секций остролодок (род *Oxytropis* DC., Fabaceae) в связи с экологией и филогенией // Сиб. экологический журн. 2008. № 4. С. 571–576.
3. Юрцев Б.А. *Oxytropis* DC. // Арктическая флора СССР / Отв. ред. Юрцев Б.А. Л.: Наука, 1986. Вып. 9. Ч. 2. С. 61–146.
4. Павлова Н.С. Бобовые – Fabaceae // Сосудистые растения советского Дальнего Востока / Отв. ред. Харкевич С.С. Л.: Наука, 1989. Т. 4. С. 191–339.
5. Положий А.В. *Oxytropis* DC. – Остролодочник // Флора Сибири / Отв. ред. Положий А.В., Малышев Л.И. Новосибирск: ВО “Наука”, 1994. Т. 9. С. 74–151.
6. Малышев Л.И. Разнообразие рода Остролодка (*Oxytropis*) в Азиатской России // *Turczaninowia*. 2008. Т. 11. № 4. С. 5–141.
7. Положий А.В. Виды *Oxytropis* (Fabaceae) в горных флорах Южной Сибири // Бот. журн. 1995. Т. 80. № 10. С. 58–66.
8. Bunge Al. Species generis *Oxytropis* DC. // Mem. Acad. Sci. Petersb. (Sci. Phys. Math.). Ser. 7. 1874. Т. 22. № 1. 166 p.
9. Васильченко И.Т., Федченко Б.А., Шишкин Б.К. Род *Oxytropis* // Флора СССР / Под ред. Шишкина Б.К., Боброва Е.Г. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Т. 13. С. 1–229.

10. Гробов В.И. Растения Центральной Азии. Вып. 86. Род Остролодочник. СПб.: "Мир и семья-95", 1998. 92 с.
11. Малышев Л.И. Фенетика в секции *Verticillares* рода *Oxytropis* (Fabaceae) // Бот. журн. 2007. Т. 92. № 6. С. 793–807.
12. Kazempour Osaloo S., Maassoumi A.A., Murakami N. Molecular systematics of the genus *Astragalus* L. (Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndhF* sequences // Plant Syst. Evol. 2003. V. 242. P. 1–32. doi 10.1007/s00606-003-0014-1
13. Kazempour Osaloo S., Maassoumi A.A., Murakami N. Molecular systematics of the Old World *Astragalus* (Fabaceae) as inferred from nrDNA ITS sequence data // Brittonia. 2005. V. 57. № 4. P. 367–381. [http://dx.doi.org/doi/10.1663/0007-196X\(2005\)057\[0367:MSOTOW\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/doi/10.1663/0007-196X(2005)057[0367:MSOTOW]2.0.CO;2)
14. Wojciechowski M.F. *Astragalus* (Fabaceae): A molecular phylogenetic perspective // Brittonia. 2005. V. 57. № 4. P. 382–396. [http://dx.doi.org/doi/10.1663/0007-196X\(2005\)057\[0382:AFAMPP\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/doi/10.1663/0007-196X(2005)057[0382:AFAMPP]2.0.CO;2)
15. Bartha L., Dragos N., Molnar A., Sramko G. Molecular evidence for reticulate speciation in *Astragalus* (Fabaceae) as revealed by a case study from sect. *Dissitiflori* // Botany. 2013. V. 91. P. 702–714. doi 10.1139/cjb-2013-0036
16. Gao T., Ma X., Zhu X. Use the *psbA–trnH* region to authenticate medicinal species of Fabaceae // Biol. Pharm. Bull. 2013. V. 36. № 12. P. 1975–1979.
17. Archambault A., Stromvik M.V. Evolutionary relationships in *Oxytropis* species, as estimated from the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) sequences point to multiple expansions into the Arctic // Botany. 2012. V. 90. № 8. P. 770–779. doi 10.1139/B2012-023
18. Gao L., Lu P., Jin F. et al. *TrnL-F* sequences analysis and molecular phylogeny of 10 species of *Oxytropis* // Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica. 2013. № 2. P. 266–271.
19. Lu P., Gao L., Jin F., Enhebayaer. Molecular phylogeny of 10 species of *Oxytropis* based on *psbA–trnH* sequences // Acta Botanica Yunnanica. 2014. № 3. P. 279–284.
20. Артюкова Е.В., Козыренко М.М. Филогенетические отношения *Oxytropis chankaensis* Jurtz. и *Oxytropis oxurphylla* (Pall.) DC. (Fabaceae) по данным секвенирования ITS рибосомного оперона ядерной ДНК и межгенных сплайсеров хлоропластного генома // Генетика. 2012. Т. 48. № 2. С. 186–193.
21. Doyle J.J., Doyle J.L., Rauscher J.T., Brown A.H.D. Diploid and polyploid reticulate evolution throughout the history of the perennial soybeans (*Glycine* subgenus *Glycine*) // New Phytol. 2004. V. 161. P. 121–132. doi 10.1046/j.1469-8137.2003.00949.x
22. Артюкова Е.В., Холина А.Б., Козыренко М.М., Журавлев Ю.Н. Анализ генетической изменчивости редкого эндемичного вида *Oxytropis chankaensis* Jurtz. (Fabaceae) на основе RAPD маркеров // Генетика. 2004. Т. 40. № 7. С. 877–884.
23. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Mol. Biol. 1991. V. 17. P. 1105–1109.
24. 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. Bot. 2005. V. 92. P. 142–166. doi 10.3732/ajb.92.1.142
25. Bonfельд J.K., Smith K.F., Staden R. A new DNA sequence assembly program // Nucl. Acids Res. 1995. V. 23. P. 4992–4999. doi 10.1093/nar/23.24.4992
26. Gouy M., Guindon S., Gascuel O. SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building // Mol. Biol. Evol. 2010. V. 27. P. 221–224. doi 10.1093/molbev/msp259
27. Артюкова Е.В., Козыренко М.М., Холина А.Б., Журавлев Ю.Н. Высокая генетическая изменчивость в эндемичном роде *Oxytropis chankaensis* Jurtz. // Генетика. 2011. V. 139. № 2. P. 221–232. doi 10.1007/s10709-010-9539-8
28. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Resour. 2010. V. 10. P. 564–567. doi 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
29. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. P. 2731–2739.
30. Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
31. Swofford D.L. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.04. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2003.
32. Posada D., Crandall K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution // Bioinformatics. 1998. V. 14. P. 817–818. doi 10.1093/bioinformatics/14.9.817
33. Borsch T., Quandt D. Mutational dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA // Plant Syst. Evol. 2009. V. 282. P. 169–199. doi 10.1007/s00606-009-0210-8
34. Xu D.H., Abe J., Sakai M. et al. Sequence variation of non-coding regions of chloroplast DNA of soybean and related wild species and its implications for the evolution of different chloroplast haplotypes // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 101. № 5–6. P. 724–732. doi 10.1093/jhered/esi087
35. Kenicer G.J., Kajita T., Pennington R.T., Murata J. Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data // Am. J. Bot. 2005. V. 97. № 7. P. 1199–1209. doi 10.3732/ajb.92.7.1199
36. Васильченко И.Т. К вопросу о генезисе рода остролодочник *Oxytropis* DC. // Бот. журн. 1965. Т. 50. № 3. С. 313–323.
37. Положий А.В. К вопросу о происхождении и эволюции рода *Oxytropis* (Fabaceae) // Бот. журн. 2003. Т. 88. № 10. С. 55–59.
38. Ворошилов В.Н. Определитель растений советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1982. 672 с.
39. Welsh S.L., *Oxytropis* DC. Names, basionyms, types, and synonyms. Flora North America project // Great Basin Naturalist. 1991. V. 51. № 4. P. 377–396. doi 10.2307/41712682

40. Якубов В.В., Чернягина О.А. Каталог флоры Камчатки (сосудистые растения). Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2004. 165 с.
41. Yurtsev B.A. Survey of arctic legumes with emphasis on the species concept in *Oxytropis* // Norwegian Acad. Sci. and Letters. 1999. V. 38. P. 295–318.
42. Малышев Л.И. Экологический анклав азиатского рода остролодка (*Oxytropis* DC., Fabaceae) в Северной Америке // Растительный мир Азиатской России. 2009. № 1 (3). С. 31–43.
43. Козыренко М.М., Артюкова Е.В., Журавлëв Ю.Н. Самостоятельность видов *Iris vorobievii* N.S. Pavlova, *Iris mandshurica* Maxim. и *Iris humilis* Georgi (Iridaceae): доказательство из ядерного и хлоропластного геномов // Генетика. 2009. Т. 45. № 11. С. 1575–1584.
44. Власова Н.В., Дюхина Е.И., Трубина Л.К. Особенности географического распространения секции *Arctobia* рода *Oxytropis* (Fabaceae) // Растительный мир Азиатской России. 2008. № 1. С. 10–16.
45. Холина А.Б., Наконечная О.В., Якубов В.В., Корень О.Г. Генетическая изменчивость шести видов растений рода *Oxytropis* DC. (Fabaceae) п-ова Камчатка // Генетика. 2013. Т. 49. № 10. С. 1174–1182.
46. Малышев Л.И. Фенетика и хорология остролодок секции *Orobia* Bunge (род *Oxytropis* DC., Fabaceae) в Азиатской России // Растительный мир Азиатской России. 2008. № 1. С. 3–9.
47. Shimizu T. The New Alpine Flora of Japan in colour. Osaka, Hoikusha, 1982. V. 1. 331 p.

Phylogenetic Relationships of the Species of *Oxytropis* DC. Subg. *Oxytropis* and *Phacoxytropis* (Fabaceae) from Asian Russia Inferred from the Nucleotide Sequence Analysis of the Intergenic Spacers of the Chloroplast Genome

A. B. Kholina^a, M. M. Kozyrenko^a, E. V. Artyukova^a, D. V. Sandanov^b, and E. A. Andrianova^c

^aInstitute of Biology and Soil Science, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

e-mail: kholina@biosoil.ru

^bInstitute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, 670047 Russia

^cInstitute of Biological Problems of the North, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia

Abstract—The nucleotide sequence analysis of *trnH–psbA*, *trnL–trnF*, and *trnS–trnG* intergenic spacer regions of chloroplast DNA performed in the representatives of the genus *Oxytropis* from Asian Russia provided clarification of the phylogenetic relationships of some species and sections in the subgenera *Oxytropis* and *Phacoxytropis* and in the genus *Oxytropis* as a whole. Only the section *Mesogaea* corresponds to the subgenus *Phacoxytropis*, while the section *Janthina* of the same subgenus groups together with the sections of the subgenus *Oxytropis*. The sections *Chrysanthia* and *Ortholoma* of the subgenus *Oxytropis* are not only closely related to each other, but together with the section *Mesogaea*, they are grouped into the subgenus *Phacoxytropis*. It seems likely that the sections *Chrysanthia* and *Ortholoma* should be assigned to the subgenus *Phacoxytropis*, and the section *i* should be assigned to the subgenus *Oxytropis*. The molecular differences were identified between *O. coerulea* and *O. mandshurica* from the section *Janthina* that were indicative of considerable divergence of their chloroplast genomes and the species independence of the taxa. The species independence of *O. czukotica* belonging to the section *Arctobia* was also confirmed. English translation of the paper published in Russian Journal of Genetics, 2016, Vol. 52, No. 8, is available ONLINE by subscription from: <http://www.springer.com/>, <http://link.springer.com>.

Keywords: *Oxytropis*, Fabaceae, phylogenetic relationships, intergenic spacers, chloroplast DNA.