

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ АРАЛИЕВЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СРАВНЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ITS РЕГИОНА ЯДЕРНОЙ рДНК

© 2005 г. Е. В. Артюкова, А. А. Гончаров, М. М. Козыренко,
Г. Д. Реунова, Ю. Н. Журавлев

Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022;
факс: (4232)3101-93; e-mail: ibss@eastnet.febras.ru

Поступила в редакцию 17.08.2004 г.

У восьми видов семейства Araliaceae, произрастающих на территории российского Дальнего Востока, определены нуклеотидные последовательности ITS региона ядерной рДНК, сравнение которых позволило установить филогенетические связи дальневосточных видов с другими представителями семейства. Показано, что приморская и сахалинская популяции *Aralia elata* различаются между собой генетически и могут классифицироваться как внутривидовые таксоны; *A. continentalis*, как и *A. cordata*, относится к секции *Aralia sensu*, а виды *Oplopanax elatus* и *O. horridus* очень близки и, возможно, являются подвидами одного вида или относительно молодыми видами. Подтверждена правомерность выделения двух секций в пределах рода *Eleutherococcus*.

Реликтовое семейство аралиевых (Araliaceae) насчитывает, по разным сводкам, от 47 до 80 родов и от 900 до 1350 видов [1, 2]. Большинство это крупные деревья, кустарники, редко кустарнички, полукустарники и многолетние корневищные травы. Пять из шести крупных родов, насчитывающих 50 и более видов, произрастают почти исключительно в тропиках и субтропиках [2]. Другие роды, обычно немногочисленные, распространены и в умеренной зоне, при этом наблюдается их приуроченность к приокеаническим территориям материков [2, 3]. Семейство Araliaceae не имеет до сих пор удовлетворительной системы [4]. Известно около десятка классификационных систем, в которых семейство подразделяется на трибы (от 3 до 10) на основе относительно небольшого числа определяющих морфологических признаков [2, 5–7]. Представители аралиевых характеризуются значительным морфологическим разнообразием и гомопластичностью признаков, что затрудняет внутри- и межродовую классификацию [2, 6]. В результате во многих системах явно близкие виды оказывались в разных трибах, или само семейство подразделялось на два, или включалось в качестве подсемейства в семейство Ариасеae в зависимости от того, какому признаку придавали больший вес. Описание новых видов, объединение и перегруппирование ранее описанных происходит до сих пор [8–12]. Все это свидетельствует, по-видимому, о том, что прежние системы недостаточно адекватно отражают эволюционную историю семейства и нуждаются в пересмотре [2]. Обычно аралиевые рассматривают как парафилетичес-

кую группу в составе порядка *Apiales* [2, 13], но недавние исследования филогенетических связей между видами этого порядка с использованием молекулярных ДНК-маркеров показали, что группа родов, традиционно выделяемая как Araliaceae, является монофилетичной [2, 14–17]. Также удалось прояснить филогенетические взаимоотношения в некоторых родах и между группами родов семейства Araliaceae [18–22].

На территории российского Дальнего Востока произрастают восемь видов из пяти родов семейства аралиевых [4]. Род *Aralia* представлен тремя видами, род *Eleutherococcus* – двумя, а роды *Kalopanax*, *Panax* и *Oplopanax* – одним видом каждый. *Aralia elata* (Miq.) Seem (аралия высокая) растет на южных островах Курильской гряды и Сахалине, юго-востоке Амурской области, в Приморском и Хабаровском краях, а также на территориях сопредельных государств – Китая, Кореи и Японии. Некоторые исследователи выделяли два вида: континентальный – аралия маньчжурская *A. mandshurica* Rupr. & Maxim. и островной – аралия высокая *A. elata* (Miq.) Seem. Виды травянистых аралий *A. cordata* Thunb. (аралия сердцевидная) и *A. continentalis* Kitag. (аралия материковая) очень сходны морфологически, однако первая растет только на островах, а вторая – на материке [4, 23]. Первоначально травянистая аралия, произрастающая на материке, была описана В.Л. Комаровым как *A. cordata* [24], но ряд ботаников признавали за ней статус самостоятельного вида *A. continentalis* [1, 25, 26]. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. (элеутерококк колючий) широко распространен в лесах юга Амурской и

Сахалинской областей, на территории Хабаровского и Приморского краев, Японии и северо-восточных провинций Китая. Являясь одним из доминирующих видов подлеска, *E. senticosus* дальше всех аралиевых заходит на север. *E. sessiliflorus* (Rupr. et Maxim.) S.Y. Hu (элеутерококк сидячецветковый) морфологически близок *E. senticosus*, но встречается одиночно или небольшими группами и обладает несколько более узким ареалом [1, 4]. Обширный ареал *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (калопанакса семилостного) охватывает почти всю Юго-Восточную Азию, включая юг Приморья, южные острова Курильской гряды и юг Сахалина [1, 27]. Области распространения женьшеня настоящего *Panax ginseng* С.А. Meyer и заманихи высокой *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai довольно ограничены: женьшень представлен сегодня популяциями, произрастающими только на территории Приморья [4], а заманиха растет в южных районах Приморья, на северо-востоке Китая и севере Корейского полуострова [1].

Проведенные нами ранее исследования генетических взаимоотношений дальневосточных (ДВ) видов семейства Araliaceae методом RAPD (random amplified polymorphic DNA) показали, что дистанции между *E. sessiliflorus* и *E. senticosus* соответствуют межродовым, травянистые аралии *A. cordata* и *A. continentalis* являются разными видами, а *A. elata* (о. Сахалин) и *A. mandshurica* (Приморский край) не могут считаться самостоятельными видами [28].

В настоящей работе определены нуклеотидные последовательности внутреннего транскрибируемого региона ядерной рибосомной ДНК (ITS региона) ДВ-представителей семейства Araliaceae и установлены их филогенетические связи с другими аралиевыми.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Образцы растений семейства Araliaceae были взяты из природных популяций Приморского края (*A. mandshurica* Rupr. & Maxim. = *A. elata* var. *mandshurica*, *E. senticosus*, *E. sessiliflorus*, *K. septemlobus*, *P. ginseng*) и о. Сахалин (*A. elata*, *A. cordata*), а также из коллекций Ботанического сада ДВО РАН (*A. continentalis*) и Горнотаежной станции им. акад. В.Л. Комарова (*A. continentalis*, *O. elatus*).

Выделение и секвенирование ДНК. Общую ДНК выделяли из лиофильно высушенных листьев, используя ранее опубликованную методику [29]. Полная последовательность ITS региона рДНК, включающего 2 спейсера (ITS1 и ITS2) и ген 5.8S рРНК между ними, а также прилегающих к нему участков генов 18S рРНК и 2 8S рРНК, была амплифицирована с использованием праймеров N-nc18S10 и C26A [20]. Полимеразную цепную

реакцию (ПЦР) проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей буфер [29], 25 нг геномной ДНК, 0,5 ед. *Taq*-полимеразы (ГНИИ Генетика, Москва), 0,2 мМ каждого из дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и 0,2 мкМ каждого праймера. Температурный профиль ПЦР: 1 мин 94°C, 2 мин 50°C и 2 мин 72°C (35 циклов). Продукты ПЦР использовали для циклического секвенирования с набором Big Dye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems) и шестью праймерами: N18L18, N-nc18S10, N5.8S, C26A, ITS2 и ITS4 [20]. Температурный профиль циклического секвенирования: 30 с 96°C, 15 с 55°C и 4 мин 60°C (25 циклов). Определение нуклеотидной последовательности ДНК обеих цепей (прямой и обратной) проводили на генетическом анализаторе ABI PRIZM 310 (Applied Biosystems). Последовательности собирали, используя пакет программ Staden Package [30], и затем были депонированы в GenBank (№ AJ786228-AJ786237).

Анализ нуклеотидных последовательностей и построение филогенетических деревьев. Для определения филогенетических связей ДВ-видов аралиевых с другими членами семейства из базы данных GenBank были выбраны последовательности ITS региона 84 видов (90 внутривидовых таксонов) 20 родов (таблица). Последовательности выравнивались вручную с использованием программы SeaView [31]. Филогенетический анализ проводили методами максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML), ближайшего связывания (neighbour-joining, NJ), максимальной экономии (maximum parsimony, MP) и Бейеса (bayesian inference, BI), используя пакеты программ RAUP (версия 4.0b10 [32]) и MrBayes (версия 3.0b3 [33]). Дистанции для NJ-анализа рассчитывали через ML-оптимизацию. Выбор оптимальной модели эволюции нуклеотидных последовательностей (для ML- и NJ-анализов) проводили с помощью программы Modeltest (версия 1.05 [34]) с использованием иерархических тестов. Для ML- и MP-анализов применяли эвристический поиск оптимальной топологии и алгоритм branch-swapping: tree-bisection-reconnection. При BI-анализе создавали 1 млн. генераций цепей Маркова, из которых отбирали пробы каждые 100 генераций. Из полученных 10000 проб первые 500 исключали из анализа. Устойчивость полученных в NJ- и MP-анализах филогенетических деревьев оценивали методом бутстрепа [35], используя 1000 реплик, а в BI-анализе – с помощью апостериорных вероятностей (Posterior Probabilities, PP). В MP-анализе для каждой реплики бутстреп-анализа использовали опцию поэтапного добавления (10 эвристических поисков оптимальной топологии со случайным порядком добавления таксонов). Значения индекса бутстрепа (BP) менее 50% и PP менее 0.90 не рассматривались и не приведены на рисунке.

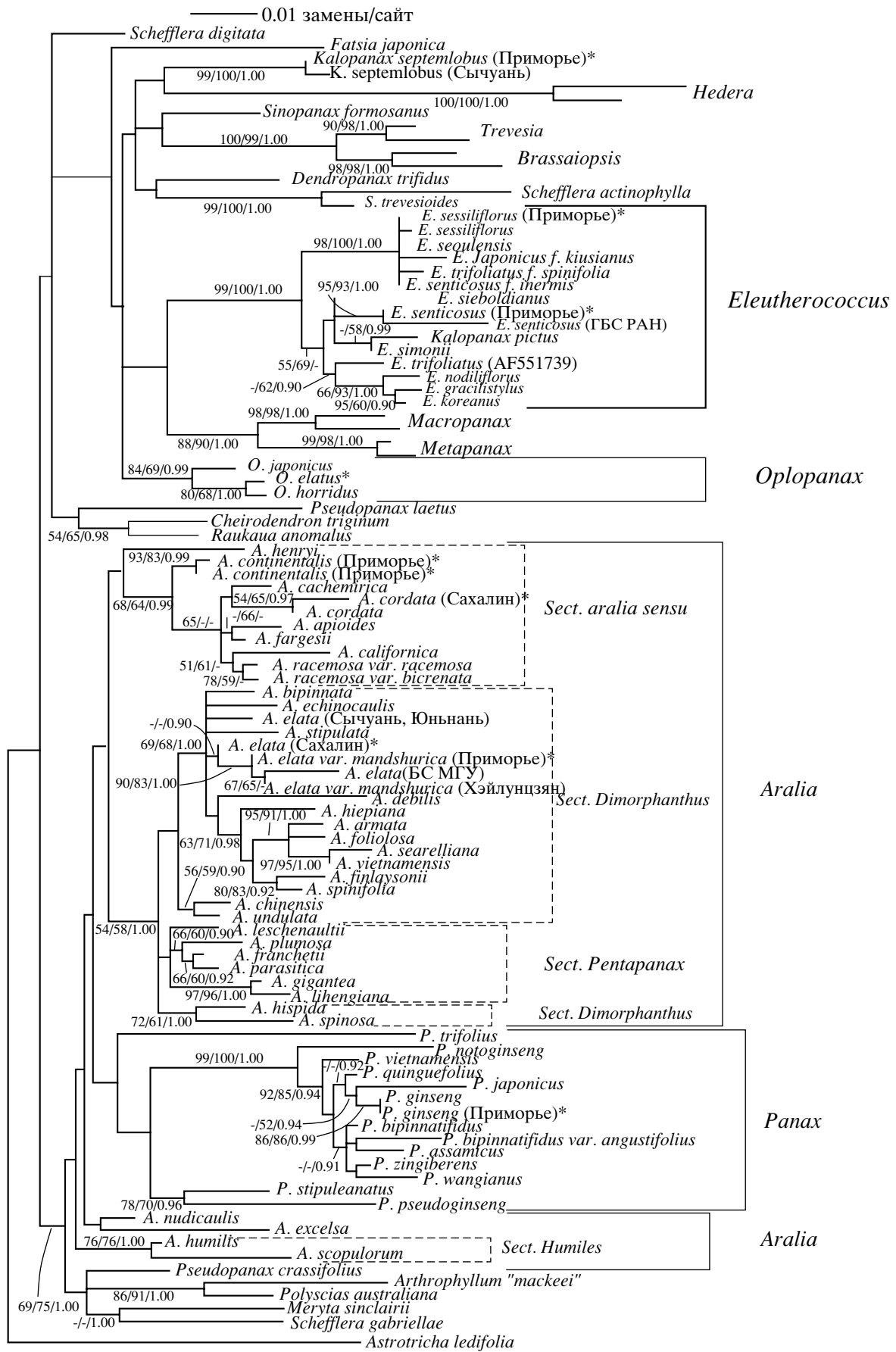
Виды семейства Araliaceae и номера последовательностей ITS участка депонированных в базе данных GenBank

Вид	GenBank, №
<i>Aralia apioides</i> Hand.Mazz.	U66704
<i>Aralia armata</i> (Wall.) Seem	AY233310
<i>Aralia bipinnata</i> Blanco	AF273519
<i>Aralia cachemirica</i> Decne.	U66706
<i>Aralia californica</i> S. Watson	U66920
<i>Aralia chinensis</i> L.	U63181
<i>Aralia continentalis</i> Kitag., изолят 1	AJ786231
<i>Aralia continentalis</i> Kitag., изолят 2	AJ786232
<i>Aralia cordata</i> Thunb.	U66922
<i>Aralia cordata</i> Thunb.	AJ786236
<i>Aralia debilis</i> J. Wen	AF273523
<i>Aralia echinocaulis</i> Hand.Mazz.	AF273524
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	AF273526
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	AF077875
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	AJ786234
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem. var. <i>mandshurica</i>	AF273528
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem. var. <i>mandshurica</i>	AJ786233
<i>Aralia excelsa</i> (Griseb.) J. Wen [= <i>Sciadodendron excelsum</i> Griseb.]	AF242231
<i>Aralia fargesii</i> Franch.	U66924
<i>Aralia finlaysoniana</i> (Wall. ex Don) Seem.	AY233311
<i>Aralia foliolosa</i> Seem.	AY233312
<i>Aralia franchetii</i>	AY271909
<i>Aralia gigantea</i> J. Wen	AY233313
<i>Aralia henryi</i> Harms	U41672
<i>Aralia hiepiana</i> J. Wen & Lowry	AY233316
<i>Aralia hispida</i> Vent.	U66925
<i>Aralia humilis</i> Cav.	AF242230
<i>Aralia leschenaultii</i> (DC.) J. Wen [= <i>Pentapanax fragrans</i> (D. Don) Ha]	AY233317
<i>Aralia lihengiana</i> J. Wen, L.Deng & X. Shi	AY233315
<i>Aralia nudicaulis</i> L.	U41674
<i>Aralia parasitica</i>	AY233319
<i>Aralia plumosa</i> Li [= <i>Pentapanax plumosus</i> (Li) Shang]	AF242255
<i>Aralia racemosa</i> L. ssp. <i>racemosa</i>	U66926
<i>Aralia racemosa</i> L. ssp. <i>bicrenata</i>	U66929
<i>Aralia scopulorum</i> Brandege	U66927.
<i>Aralia searelliana</i> Dunn	AF273532
<i>Aralia spinifolia</i> Merr.	U41676
<i>Aralia spinosa</i> L.	U66928
<i>Aralia stipulata</i> Franch	AF273535
<i>Aralia vietnamensis</i> Ha	AF273541
<i>Aralia undulata</i> Hand.Mazz.	AF273539
<i>Arthropphyllum "mackeei"</i> Lowry ined.	U63182
<i>Astrotricha ledifolia</i> DC.	U63190
<i>Brassaiopsis glomerulata</i> Regel	AY256901
<i>Brassaiopsis ficifolia</i> Dunn	AF551722
<i>Cheirodendron trigynum</i> (Gaud.) A. Heller	U63183.
<i>Dendropanax trifidus</i> (Thunb.) Makino	AF242238
<i>Eleutherococcus gracilistylus</i> (W. W. Sm.) S. Y. Hu	AY548182
<i>Eleutherococcus koreanus</i> (Nakai) Nakai	AY548184
<i>Eleutherococcus japonicus</i> (Franch. & Sav.) Nakai.f. <i>kiusianus</i>	AY548183

Таблица. Окончание

Вид	GenBank, №
<i>Eleutherococcus nodiflorus</i> (Dunn) S.Y. Hu	U63184
<i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim.	AF077885
<i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim.	AJ786230
<i>Eleutherococcus senticosus</i> f. <i>inermis</i> Kom.	AY548186
<i>Eleutherococcus seoulensis</i> (Nakai) S.Y.Hu	AY548187
<i>Eleutherococcus sessiliflorus</i> (Rupr. & Maxim.) S.Y. Hu	AF242252
<i>Eleutherococcus sessiliflorus</i> (Rupr. & Maxim.) S.Y. Hu	AJ786229
<i>Eleutherococcus sieboldianus</i> (Makino) Koidz.	AY548190
<i>Eleutherococcus simonii</i> (SimonLouis ex C.K. Schneid.) Hesse	AF242227
<i>Eleutherococcus trifoliatius</i> (L.) S.Y.Hu (L.) Merr.	AF551739
<i>Eleutherococcus trifoliatius</i> f. <i>spinifolia</i>	AY548191
<i>Fatsia japonica</i> (Thunb.) Decne. & Planch.	U63193
<i>Hedera helix</i> L.	AF242241
<i>Hedera helix</i> L. ssp. <i>hibernica</i> (G. Kirchn.) D. C. McClint.	AF506079
<i>Kalopanax septemlobus</i> (Thunb.) Koidz.	AY256899
<i>Kalopanax septemlobus</i> (Thunb.) Koidz	AJ786228
<i>Kalopanax pictus</i> (Thunb.) Nakai	U63187
<i>Macropanax dispermus</i> (Bl.) Ktze.	AF229767
<i>Macropanax rosthornii</i> (Harms) C. Y. Wu ex Hoo	AF551738
<i>Meryta sinclairii</i> (Hook. f.) Seem.	U63194
<i>Metapanax davidii</i> (Franch.) Frodin ex J. Wen & Frodin	AF242233
<i>Metapanax delavayi</i> (Franch.) Frodin ex J. Wen & Frodin	AF242232
<i>Oplopanax elatus</i> (Nakai) Nakai	AJ786237
<i>Oplopanax horridus</i> (Seem.) Miq.	AF551740
<i>Oplopanax japonicus</i> (Nakai) Nakai	AF242248, AF242249
<i>Panax assamicus</i> J. Wen	AY233322
<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	U41682
<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	AJ786235
<i>Panax japonicus</i> C. A. Meyer	AY271918
<i>Panax notoginseng</i> (Burkill) F. H. Chen ex C. Y. Wu & K. M. Feng	AY271919
<i>Panax bipinnatifidus</i> (Seem.) H. L. Li	AY271911
<i>Panax pseudoginseng</i> Wall. var. <i>angustifolius</i> (Burkill) H. L. Li	AY271915
<i>Panax pseudoginseng</i> Wallich	U41693
<i>Panax quinquefolius</i> L.	U41689
<i>Panax stipuleanatus</i> H. T. Tsai & K. M. Feng	AY271922
<i>Panax trifolius</i> L.	U41698
<i>Panax vietnamensis</i> Ha & Grushv	AY271924
<i>Panax wangianus</i> S. C. Sun	U41691
<i>Panax zingiberens</i> C. Y. Wu & K. M. Feng	U41700
<i>Polyscias australiana</i> (F. Mueller) Philipson	AF229688
<i>Pseudopanax anomalus</i> (L&S) (WBS)	U63164
<i>Pseudopanax crassifolius</i> (A. Cunn.) C. Koch	U63168
<i>Pseudopanax laetus</i> (Kirk) Philipson	U63176
<i>Sinopanax formosanus</i> (Hayata) Li	AF229768
<i>Schefflera digitata</i> J. R. Forst. & G. Forst.	U63188
<i>Schefflera gabriellae</i> Baill.	AF229731
<i>Schefflera hypoleucoides</i> Harms [= <i>Schefflera trevesioides</i> Harms]	AF229732
<i>Schefflera actinophylla</i> (Endl.) Harms [= <i>Brassaia actinophylla</i>]	AF242245
<i>Trevesia palmata</i> Vis.	AF551735
<i>Trevesia baviensis</i> J. Wen, Q. H. Nguyen & T. H. Nguyen, ined.	AF551731

Примечание. Жирным шрифтом выделены виды, для которых получены последовательности в настоящей работе.



РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для ДВ-представителей семейства Araliaceae определены нуклеотидные последовательности ITS региона – участка ядерного рибосомного оперона, включающего два внутренних транскрибируемых спейсера, фланкирующих кодирующую последовательность 5.8S рРНК (ITS1-5.8S рРНК-ITS2), а также прилегающих к нему участков генов 18S рРНК и 28S рРНК. Чтобы оценить возможную внутривидовую вариабельность ITS региона, для *A. elata* var. *mandshurica*, *A. elata*, *K. septemlobus* и *A. continentalis* получены последовательности нескольких образцов из разных точек ареала. ITS регионы трех образцов *A. elata* var. *mandshurica* были идентичны между собой, как и последовательности разных образцов *A. elata* и *K. septemlobus*, поэтому только по одному представителю этих видов было включено в анализ. Два образца *A. continentalis* имели незначительные различия в ITS регионе (одна замена и один индель) и оба были использованы в анализе.

С целью установления родственных взаимоотношений ДВ аралиевых их ITS последовательности были объединены с имеющимися в базе данных GenBank последовательностями других представителей этого семейства. При выборе последовательностей из базы данных мы старались представить внутривидовое и внутривидовое разнообразие тех родов, к которым принадлежат дальневосточные виды. Всего 100 ITS последовательностей, длина которых варьировала от 591 до 613 пн и после выравнивания составила 623 позиции, было включено в анализ. ITS регион аралиевых отличался значительной гомогенностью по длине (608.82 ± 2.45 пн) при низкой частоте инделей. Содержание GC-оснований также было практически инвариантным ($60.39 \pm 1.03\%$). Наиболее адекватно полученный набор данных описывала T1Mef-модель эволюции нуклеотидных последовательностей, дополненная гамма-параметром ($\Gamma = 0.4360$). Частоты двух типов замен, C \leftrightarrow T и G \leftrightarrow A, существенно выше (4.1954 и 2.3185 соответственно), чем других типов.

Надо отметить, что определенные нами последовательности ДВ-видов семейства, как правило, не были идентичны представленным в базе данных GenBank последовательностям этих же видов. Единственным исключением была последовательность ITS-региона ДНК *P. ginseng* синегорской популяции, полностью идентичная последовательностям в GenBank. Для этого вида характерна высокая консервативность ITS региона: из 10 последова-

тельностью дикорастущих растений и культивируемых сортов, представленных в базе данных, только 3 имели незначительные отличия – одну замену (C \leftrightarrow T или G \leftrightarrow A) или одну делецию. Различия между полученными нами и имеющимися в GenBank последовательностями для *A. elata* var. *mandshurica*, *A. cordata*, *E. sessiliflorus* и *K. septemlobus* ограничивались 2–4 заменами. Только для *A. elata* и *E. senticosus* они были более выражены (5–11 замен и инделей).

При анализе матрицы данных методами ML, NJ, MP и BI были получены сходные филогенетические деревья, различающиеся, как правило, положением на древе и статистической значимостью лишь некоторых ветвей. Как видно из результатов ML-анализа (рисунок), ДВ-виды семейства достоверно сгруппированы с другими представителями соответствующих родов. Взаимоотношения между таксонами семейства Araliaceae в основном согласуются с результатами других исследователей [2, 14, 17, 22]. При этом все включенные в анализ таксоны на филогенетическом древе распределены в две основные группы. Первая группа, не имеющая статистической значимости, включала *Brassaiopsis*, *Dendropanax*, *Eleutherococcus*, *Fatsia*, *Hedera*, *Kalopanax*, *Macropanax*, *Oplopanax*, *Schefflera*, *Sinopanax*, *Trevesia* (группа “*Eleutherococcus-Dendropanax-Schefflera*” [2, 17]). Вторая группа с умеренной статистической поддержкой (69% и 75% BP для NJ и MP, 1.00 P P для BI-анализов), содержала *Aralia* (включая *Pentapanax* и *Sciadodendron*), *Meryta*, *Panax*, *Polyscias*, *Pseudopanax* (группа “*Aralia-Polyscias-Pseudopanax*” [2]). В целом статистическая значимость была невысокой, и некоторые клады разрешены только топологически. Это относится, прежде всего, к двум родам, *Aralia* и *Panax*, представленным наибольшим числом видов в наших анализах и формирующим единый кластер. Предыдущие исследования [22] уже показали родство этих двух родов, однако статистическая достоверность их общей ветви также была низкой (<50% BP). Возможно, это связано с относительно невысокой филогенетической информативностью ITS региона в семействе Araliaceae и достаточно высокой внутренней гетерогенностью последовательностей видов, образующих *Aralia/Panax* кластер. В этот кластер входят почти все включенные в наш анализ виды аралий, кроме *A. humilis* и *A. scopulorum* (обе с американского континента, секция *Humiles* Harms). Два вида, *A. nudicaulis* (секция *Nanae*) и *A. excelsa*, ранее выделяемая в отдельный монотипный род *Sciadodendron*, обра-

Филогенетическое дерево аралиевых, основанное на сравнении 100 ITS рДНК последовательностей методом максимального правдоподобия (T1Mef + Γ модель). Цифрами у ветвей указана их статистическая значимость, рассчитанная для NJ/MP/BI-анализов методом бутстрепа (NJ и MP) и с помощью апостериорных вероятностей (BI). Звездочкой выделены таксоны, ITS последовательности для которых определены в настоящей работе.

зуют базальную ветвь по отношению к остальным видам кластера, формирующим две главные линии – *Panax* и *Aralia*. В кладе рода *Panax* выделяются две устойчивые группы, соответствующие секциям *Panax* (99 и 100% ВР для NJ- и МР-, 1.00 РР для ВІ-анализов) и *Pseudoginseng* (70 и 78% ВР и 0.96 РР для ВІ-анализа) подрода *Panax* [36]. Существенная генетическая дивергенция *P. trifolius*, выделяемого в монотипный подрод *Trifolius*, а также *P. stipuleanatus* и *P. pseudoginseng*, формирующих секцию *Pseudoginseng*, обуславливает обособленное положение этих таксонов на древе. Следует отметить, что монофилия рода *Panax* подтверждается несколькими морфологическими синапоморфиями и, как правило, не вызывает сомнений. *P. trifolius* хотя и имеет общие с другими видами рода синапоморфии, но существенно отличается от них по ряду палинологических и морфологических признаков и по молекулярным данным [20, 22] и занимает базальное положение в кладе рода *Panax* (рисунок), что подтверждает независимое положение этого вида в системе комплекса *Aralia/Panax* [20, 37].

Исследуемый образец *P. ginseng* синегорской популяции, как и ожидалось, достоверно включался в состав секции *Panax*, образуя сестринскую пару с *P. japonicus* (52% ВР для МР-, 0.94 РР для ВІ-анализов).

Ядро рода *Aralia* формируется из двух клад: первую составляют виды секции *Aralia sensu* Wen [22], а вторую – виды двух секций – *Dimorphanthus* Miq. и *Pentapanax* (Seem.) J. Wen, монофилия которых не установлена в нашем анализе. Подобная филогенетическая топология рода *Aralia*, в которой секции выделяются в виде соответствующих клад (*Dimorphanthus* + *Pentapanax*, *Aralia*, *Humiles*, *Nanae*), была получена ранее при исследовании комплекса *Aralia-Panax*, однако родство их также не определено [22].

Положение ДВ-видов аралий на древе соответствует их секционной принадлежности. Виды *A. continentalis* и *A. cordata* вместе с другими видами травянистых аралий входят в состав клады *Aralia sensu*, а образцы *A. elata* – в кладу секций *Dimorphanthus* + *Pentapanax*. Секция *Aralia sensu* Wen характеризуется наличием нескольких морфологических синапоморфий, например, третично-сложные листья, терминальные и боковые соцветия [21], свойственных и *A. continentalis*, и *A. cordata* [23]. Поскольку эти два вида характеризуются высоким морфологическим сходством и отличаются только некоторыми деталями строения соцветия и размерами растения [23], можно было ожидать, что они будут близкородственными и по данным молекулярной филогении. Однако морфологическая близость слагающих секцию видов не всегда отражает генетические дистанции между ними. Дивергенция ITS региона

между *A. continentalis* и *A. cordata* (1.61%) соизмерима с дивергенцией между другими видами секции, например, 1.61% между *A. racemosa* и *A. californica* или 1.44% между *A. cordata* и *A. cachemirica* или *A. cordata* и *A. fargensis*. Несмотря на это аралия материковая обычно была одной из базальных ветвей клады секции *Aralia* (64% и 68% ВР для NJ- и МР-, 0.99 РР для ВІ-анализов), в то время как *A. cordata* всегда входила в состав ее ядра. Результаты наших анализов показывают, что принадлежность *A. continentalis* к секции *Aralia* подтверждается также молекулярными синапоморфиями и вполне обоснована.

Исследуемые образцы аралии высокой группируются с образцами видов другой секции рода – *Dimorphanthus*, образуя вместе с четырнадцатью из восемнадцати таксонов этой секции умеренно поддержанную монофилетическую группу (68 и 69% ВР-, для NJ- и МР-, 1.00 РР для ВІ-анализов), взаимоотношения между видами внутри которой остаются слабо разрешенными. Эта группа вместе с *A. undulata* и *A. chinensis* составляет монофилетическую субкладу восточноазиатских видов секции *Dimorphanthus*, а два североамериканских вида этой секции, *A. hispida* и *A. spinosa*, образуют отдельную базальную ветвь в устойчивой кладе *Dimorphanthus* + *Pentapanax* (54% и 58% ВР для NJ- и МР-, 1.00 РР для ВІ-анализов). *A. elata* – полиморфный вид, широко распространенный в Азии, который иногда объединяют с *A. stipulata* под названием *Aralia chinensis sensu* [38]. Растения аралии высокой, растущие на территории Приморья, отличаются от растений с о. Сахалин величиной зубцов по краю листа и длиной черешочков листочков, количеством шипов на стволах и ветках, величиной и плотностью соцветий, в связи с чем некоторые авторы рассматривали их как разные виды, а в последние годы – считают разновидностями одного вида: *A. elata* var. *mandshurica* и *A. elata* [4, 29]. Образцы *A. elata* var. *mandshurica* (Приморье и провинция Хэйлунцзян, КНР) и *A. elata* (БС МГУ [39]) образуют статистически достоверную группу (90% и 83% ВР для NJ- и МР, 1.00 РР для ВІ-анализов). Наш образец *A. elata* (Сахалин) хотя и образует один кластер с этой группой, однако статистическая значимость такой топологии невелика (0.90 РР для ВІ-анализа). Филогенетическую связь четырех образцов этого кластера и *A. elata* из юго-западных китайских провинций Сычуань (AF273526) и Юньнань (AF273527), чьи ITS последовательности идентичны между собой, нам установить не удалось. Генетическая дифференциация образцов *A. elata* из удаленных друг от друга местобитаний (Хэйлунцзян–Приморье–Сахалин и Сычуань–Юньнань), возможно, указывает на существование криптических видов. Кроме того, наши результаты подтверждают наличие генетической дивергенции между приморской и сахалинской популяциями *A. elata*, следовательно,

эти популяции могут классифицироваться как внутривидовые таксоны.

Остальные четыре ДВ-вида аралиевых также кластеризуются с видами своих родов. Эти роды входят в состав второго крупного, не имеющего статистически значимой поддержки, кластера, объединяющего группу аралиевых с пальчатосложными и/или пальчатолопастными листьями. Этот кластер соответствует группе “Asian palmate” или “*Eleutherococcus–Dendropanax–Schefflera*” [2, 17]. В нашем анализе наиболее представительным из этой группы является род *Eleutherococcus* (12 таксонов), который включает около 35 [11] или 25 [12] видов кустарников, распространенных преимущественно в Северо-Восточной Азии и характеризующихся наличием шипов, пальчатосложными листьями и пятимерными цветками с двумя–пятью плодолистиками [11, 12]. ДВ представители этого рода, *E. senticosus* и *E. sessiliflorus*, имеют перекрывающиеся ареалы, внешне похожи, но отличаются габитусом, некоторыми особенностями соцветия и количеством шипов [1, 4]. Ранее некоторые ботаники относили их к разным родам – *Eleutherococcus* Maxim. и *Acanthopanax* (Decaisne & Planchon) Witte, но современные систематики объединяют эти два рода в один, который, согласно принятой ICBN номенклатуре, называется *Eleutherococcus* [40]. Для рода в целом свойственна высокая вариабельность морфологических признаков, пределы индивидуальной изменчивости которых перекрывают межвидовую изменчивость [11]. Представители рода *Eleutherococcus* s.l. формируют устойчивую группу (99 и 100% ВР для NJ- и МР-, 1.00 РР для VI-анализов), которая разделяется на две субклады. Исследуемые образцы *E. senticosus* и *E. sessiliflorus* входят в состав разных субклад, группируясь с одноименными и родственными им видами из других районов Азии. Дивергенция видов в устойчивой субкладе (98 и 99% ВР для NJ- и МР-, 1.00 РР для VI-анализов), включающей *E. sessiliflorus*, очень незначительна (0–0.32%). Три таксона – *E. sessiliflorus* (Приморье), *E. seoulensis* и *E. senticosus* f. *inermis*, имеют идентичные ITS последовательности, и можно предположить, что в действительности они представляют один морфологически полиморфный вид. *E. senticosus* (исследуемый образец) входит в состав менее поддержанной (55% и 69% ВР для NJ- и МР-анализов) субклады рода, куда был отнесен и другой образец (из ГБС РАН) типовой формы этого вида. Примечателен тот факт, что *E. senticosus* f. *inermis* не входит в состав этой субклады. В разных субкладах оказались также и две формы *E. trifoliatum*. В обоих случаях разные формы одного вида характеризуются относительно высокой дивергенцией (3.53 и 3.21% соответственно), что ставит вопрос о необходимости уточнения их статуса в роде и значимости морфологических признаков, на основании

которых они были описаны. С другой стороны, низкая дивергенция видов в первой ветви (количество замен и/или инделей не превышало пяти) может указывать на близкое родство этих образцов, возможно, на уровне форм или разновидностей одного вида. Достоверное разделение видов рода *Eleutherococcus* на две субклады, по-видимому, является следствием существующей генетической дифференциации между ними и может служить подтверждением правомерности выделения двух секций (*Eleutherococcus* и *Acanthopanax*) в пределах этого рода, что согласуется с результатами сравнительного изучения структуры древесины [6].

В состав второй субклады кроме видов рода *Eleutherococcus* входит и *Kalopanax pictum* (U63187). Род *Kalopanax* Miq., согласно современной классификации, представлен одним видом *K. septemlobus*. Синонимами *K. septemlobus* в разное время были *K. pictum* (Thunb.) Nakai, *K. ricinifolium* (Sieb. & Zucc.) Miq., *Acer septemlobum* Thunb. Однако положение *K. septemlobus* и *K. pictum* на древе (рисунок) явно указывает на дальнее родство этих образцов. Представители родов *Eleutherococcus* и *Kalopanax* обладают несколькими общими морфологическими признаками: наличие шипов, пятимерный цветок и др., которые, однако, являются гомопластическими в семействе аралиевых. В то же время форма листьев (простые пальчато-5-7-(9)-лопастные у калопанакса и 3-5-пальчатосложные листья у элеутерококков) отличает эти роды. RAPD-анализ приморских популяций видов *K. septemlobus*, *E. senticosus* и *E. sessiliflorus* показал, что генетические дистанции между *K. septemlobus* и каждым из двух видов рода *Eleutherococcus* существенно выше (0.421 и 0.459 соответственно), чем между *E. senticosus* и *E. sessiliflorus* (0.367) и между видами родов *Agalia* и *Panax* [28]. ITS последовательность *K. pictum* (происхождение образца неизвестно) существенно отличается (30 замен) от последовательностей остальных образцов рода, причем дивергенция между ДВ-образцами *K. septemlobus* и экземпляром из провинции Китая Сычуань невелика, и они образуют отдельную ветвь древа (рисунок), которая группируется с представителями рода *Hedera*, однако достоверность этой ассоциации низка. Можно сказать, что родство *K. septemlobus* с другими аралиевыми до сих пор не установлено, поскольку в анализах, использующих различные филогенетические маркеры и наборы данных, этот вид кластеризуется либо с *Macropanax/Metapanax* кладой [2, 9], либо с *Hedera helix* [14, 16]. Поэтому говорить о монофилии родов *Kalopanax* и *Eleutherococcus*, как полагают корейские ученые [27], пока преждевременно.

Представителям рода *Oplopanax*, как и *K. septemlobus*, свойственны простые пальчато-5-7-(9)-лопастные листья и они также входят в состав

второго основного кластера. При этом восточно-азиатский вид *O. elatus* образует сестринскую пару с североамериканским видом *O. horridus* (68 и 80% ВР для NJ- и МР-, 1.00 РР для ВІ-анализов), а *O. japonicus* занимает базальное по отношению к ним положение. *O. elatus* и *O. horridus* очень сходны морфологически, и первоначально заманиха, найденная в Северной Корее, а позднее в Приморье, была описана как *Echinopanax horridus* (синоним *O. horridus*) вследствие ее внешнего сходства с известным североамериканским видом. Некоторые авторы рассматривают *O. japonicus* (Nakai) Nakai и *O. elatus* как подвиды *O. horridus* [41]. Действительно, ITS регион *O. elatus* отличается от последовательности *O. horridus* всего тремя заменами и одним инделем, а дивергенция этих видов с *O. japonicus* несколько выше: 8–9 замен и 2–3 инделя. Достаточно высокая генетическая близость американского и дальневосточного таксонов может служить подтверждением того, что *O. elatus* и *O. horridus* являются подвидами одного вида или относительно молодыми видами.

Таким образом, сравнение нуклеотидных последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной рибосомной ДНК дальневосточных представителей семейства Araliaceae позволило достоверно установить их филогенетические связи с другими представителями семейства: *Aralia continentalis*, как и *A. cordata*, относится к секции *Aralia sensu*; приморская и сахалинская популяции *A. elata* различаются между собой генетически и могут классифицироваться как внутривидовые таксоны; *Oplonanax elatus* и *O. horridus* очень близки и, возможно, являются подвидами одного вида или относительно молодыми видами. Выявленная генетическая дифференциация видов рода *Eleutherococcus* подтверждает правомерность выделения двух секций в пределах этого рода, в состав которых не входит *Kalopanax septemlobus*. Кроме того, полученные результаты показывают, что морфологические признаки, используемые в систематике аралиевых, не всегда адекватно отражают генетические дистанции между таксонами.

Авторы выражают искреннюю благодарность д.б.н. Манько Ю.И. и к.б.н. Музарок Т.И. (БПИ ДВО РАН), к.б.н. Прилуцкому А.Н. (Бот. сад ДВО РАН) и к.б.н. Остроградскому П.Г. (Горнотаежная станция им. акад. В.Л. Комарова) за помощь в сборе материала.

Работа была частично поддержана финансированием Программ фундаментальных исследований Президиума РАН (контракты № 100022-51/П 2-4/1 543-92/2 904041-69, № 041-ОБН0-34, № 041-П120-33).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сосудистые растения советского Дальнего Востока / Под ред. С.С. Харкевича. Л.: Наука, 1987. Т. 2. С. 195–203.
2. Plunkett G.M., Wen J., Lowry P.P. Intrafamilial classifications and characters in Araliaceae: insights from the phylogenetic analysis of nuclear (ITS) and plastid (trnL-trnF) sequence data // Plant Syst. Evol. 2004. V. 245. P. 1–39.
3. Грушвицкий И.В. Семейство аралиевые (Araliaceae) // Жизнь растений. М.: Просвещение, 1981. Т. 5. Ч. 2. С. 297–302.
4. Журавлёв Ю.Н., Коляда А.С. Araliaceae: женьшень и другие. Владивосток: Дальнаука, 1996. 280 с.
5. Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. Л.: Наука, 1987. 439 с.
6. Оскольский А.А. Анатомия древесины аралиевых. С.-Пб., 1994. 106 с.
7. Грушвицкий И.В., Скворцова Н.Т., Ха Тхи Зунг, Арнауттов Н.Н. Конспект семейства Araliaceae Juss. флоры Вьетнама. Новости систематики высших растений. Л. 1985. Т. 22. С. 153–191.
8. Скворцова Н.Т., Аверьянов Л.В. Новый род и вид – *Grushvitzkyia stellata* (Araliaceae) из северного Вьетнама // Бот. журн. 1994. Т. 79. № 7. С. 108–112.
9. Wen J., Lee Ch., Lowry P.P. II, Hiep N.T. Inclusion of the Vietnamese endemic genus *Grushvitzkyia* in *Brassaiopsis* (Araliaceae): evidence from nuclear ribosomal ITS and chloroplast ndh F sequences // Bot. J. Linn. Soc. 2003. V. 142. P. 445–463.
10. Mitchell A.D., Frodin D.G., Heads M.J. Reinstatement of *Raukaua* Seem., a genus of the Araliaceae centred in New Zealand // New Zealand J. Bot. 1997. V. 37. P. 205–211.
11. Kim C.H., Sun B.-Y. New Taxa and Combinations in *Eleutherococcus* (Araliaceae) from Eastern Asia // Novon. 2000. V. 10. № 3. P. 209–214.
12. Yunfei D. *Eleutherococcus humillimus*, a new combination in chinese Araliaceae // Novon. 2003. V. 13. P. 305–306.
13. Thorne R. F. Proposed new realignments in the angiosperms // Nord. J. Bot. 1983. V. 3. P. 85–117.
14. Plunkett G.M., Soltis D.E., Soltis P.S. Clarification of the relationship between Apiaceae and Araliaceae based on matK and rbcL sequence data // Amer. J. Bot. 1997. V. 84. P. 565–580.
15. Plunkett G.M. Relationships of the order Apiales to subclass Asteridae: a reevaluation of morphological characters based on insights from molecular data // Edinburgh J. Bot. 2001. V. 58. P. 183–200.
16. Chandler G.T., Plunkett G.M. Evolution in Apiales: nuclear and chloroplast markers together in (almost) perfect harmony // Bot. J. Linn. Soc. 2004. V. 144. P. 123–147.
17. Wen J., Plunkett G.M., Mitchell A.D., Wagstaff S.J. The evolution of Araliaceae: a phylogenetic analysis based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Syst. Bot. 2001. V. 26. № 1. P. 144–167.
18. Costello A., Motley T. Molecular systematics of *Tetraplasandra*, *Munroidendron* and *Reynoldsia sandwicensis* (Araliaceae) and the evolution of superior ovaries in Tet-

- raplasandra // *Edinburgh J. Bot.* 2001. V. 58. P. 229–242.
19. Mitchell A.D., Wagstaff S.J. Phylogenetic relationships of *Pseudopanax* species (Araliaceae) inferred from parsimony analysis of rDNA sequence data and morphology // *Plant Systematics and Evolution.* 1997. V. 208. P. 121–138.
 20. Wen J., Zimmer E.A. Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the ginseng genus, Araliaceae): inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // *Mol. Phylogen. Evol.* 1996. V. 6. № 2. P. 167–177.
 21. Wen J., Shi S., Jansen R.K., Zimmer E.A. Phylogeny and biogeography of *Aralia* sect. *Aralia* (Araliaceae) // *Amer. J. Bot.* 1998. V. 85. № 6. P. 866–875.
 22. Wen J. Evolution of the *Aralia*–*Panax* complex (Araliaceae) as inferred from nuclear ribosomal ITS sequences // *Edinburgh J. Bot.* 2001. V. 58. P. 243–257.
 23. Остроградский П.Г. Аралии российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2003. 114 с.
 24. Комаров В.Л. Флора Маньчжурии. Ч. 3 // Избр. соч. Т. 5. М.Л.: АН СССР. 1950. 814 с.
 25. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. Л.: Наука, 1981. 510 с.
 26. Kitagawa M. Contributio ad cognitionem florum Manshuricae. (VI) // *Botanical Magazine/Tokyo.* 1935. V. 49. № 580. P. 222–234.
 27. Chang C.S., Kim H., Kang H.S., Lee D.K. A morphometric analysis of the eastern Asian *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (Araliaceae) // *Bot. Bull. Acad. Sin.* 2003. V. 44. P. 337–344.
 28. Журавлев Ю.Н., Артюкова Е.В., Козыренко М.М., Реунова Г.Д. Изучение генетических связей между дальневосточными видами семейства Araliaceae методом RAPD // *Генетика.* 2003. Т. 39. № 1. С. 5763. (Zhuravlev Yu.N., Artyukova E.V., Kozыrenko M.M., Reunova G. D. Genetic Relationships among Far Eastern Species of the Family Araliaceae Inferred by RAPD Analysis // *Rus. J. Genetics.* 2003. V. 39. № 1. P. 4651.)
 29. Реунова Г. Д., Артюкова Е.В., Козыренко М.М. и др. Применение метода полимеразной цепной реакции с участием произвольных праймеров для выявления геномного полиморфизма женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мей.) // *Биотехнология.* 1996. № 3. С. 13–18.
 30. Bonfield J., Beal K., Jordan M. et al. Staden Package v1.4. <http://www.mrc.lmb.cam.ac.uk/p/ubseq/>.
 31. Galtier N., Gouy M., Gautier C. SeaView and Phylo win, two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny // *Comput. Applic. Biosci.* 1996. V. 12. P. 543–548.
 32. Swofford D.L. PAUP* 4.0 – Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). 1998. Sinauer Assoc., Sunderland, MA Version 4.0 beta.
 33. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny // *Bioinformatics.* 2001. V. 17. P. 754–755.
 34. Posada D., Crandall K.A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution // *Bioinformatics.* 1998. V. 14. P. 817–818.
 36. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // *Evolution.* 1985. V. 39. P. 783–791.
 36. Wen J. Species diversity, nomenclature, phylogeny, biogeography, and classification of the ginseng genus (*Panax* L., Araliaceae) // Utilization of biotechnological, genetic and cultural approaches for North American and Asian ginseng improvement. Proceedings of the International Ginseng Workshop 2001 (Proc. Int. Ginseng Wp.). Vancouver: Simon Fraser University Press, 2001. P. 69–72.
 37. Wen J. Evolution of eastern Asian eastern North American disjunct distributions in flowering plants // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1999. V. 30. P. 421–455.
 38. Li H.–L. The Araliaceae of China // *Sargentia.* 1942. V. 2. P. 11–34.
 39. Вальехо–Роман К.М., Пименов М.Г. и др. Молекулярная систематика Umbelliferae: использование последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров ядерной рибосомной ДНК для выяснения эволюционных отношений // *Бот. журн.* 1998. Т. 83. № 7. С. 122. (ValiejoRoman K.M., Pimenov M.G., Terentieva E.I. et al. Molecular systematics of Umbelliferae: using nuclear rDNA internal transcribed spacer sequences to resolve issues of evolutionary relationships // *Bot. Z.* 1998. V. 83. № 7. P. 1–22.)
 40. International Code of Botanical Nomenclature (Saint Louis Code) / Eds. Greuter W., McNeill J., Barrie F.R. et al. 2000. *Regnum Veg.* 138.
 41. Lantz T.C., Swerhun K., Turner N.J. Devil's club (*Oplonanax horridus*): an ethnobotanical review // *Herbal-Gram.* 2004. V. 62. P. 3348.