

Rodionov A. V. 2013. Polyploidy and interspecies hybridization in the evolution of the flowering plants. — Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii. 17(4—2): 916—929. (In Russ.).

Selvi F., Papini A., Hilger H., Bigazzi M., Nardi E. 2004. The phylogenetic relationships of *Cynoglossis* (Boraginaceae—Boragineae) inferred from ITS, 5.8S and *trnL* sequences. — Pl. Syst. Evol. 246(3/4): 195—209. DOI: 10.1007/s00606-004-0151-1

Taberlet P. L., Gielly G., Pautou G., Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of the three noncoding regions of the chloroplast DNA. — Pl. Mol. Biol. 17: 1105—1109.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. — Mol. Biol. Evol. 30: 2725—2729.

Tarikahya B., Erik S. 2011. Phylogeny of *Symphytum* L. (Boraginaceae) with special emphasis on Turkish species. — Afr. J. Biotechnol. 10(69): 15 483—15 493. DOI: 10.5897/AJB11.1094

Vinogradova Y. K., Mayorov S. R., Khorun L. V. 2010. Chernaya kniga flory Sredney Rossii [Black list of Central Russia flora]. Moscow. 512 p. (In Russ.).

Weigend M., Gottschling M., Selvi F., Hilger H. H. 2009. Marblesseeds are gromwells — systematics and evolution of *Lithospermum* and allies (Boraginaceae tribe Lithospermeae) based on molecular and morphological data. — Mol. Phylog. Evol. 52(3): 755—768.

Weigend M., Gottschling M., Selvi F., Hilger H. H. 2010. Fossil and Extant Western Hemisphere *Boragineae*, and the Polyphyly of «*Trigonotideae*» Riedl (Boraginaceae: *Boraginoideae*) — Syst. Bot. 35(2): 409—419.

Weigend M., Luebert F., Selvi F., Brokamp G., Hilger H. H. 2013. Multiple origins for Hound's tongues (*Cynoglossum* L.) and Navel seeds (*Omphalodes* Mill.) — The phylogeny of the borage family (Boraginaceae s. str.). — Mol. Phylog. Evol. 68(3): 604—618.

White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. — In: PCR protocols: a guide to methods and application. San Diego. P. 315—322.

Winkworth R. C., Grau J., Robertson A. W., Lockhart P. J. 2002. The origins and evolution of the genus *Myosotis* L. (Boraginaceae). — Mol. Phylog. Evol. 24(2): 180—193.

Бот. журн., 2018. 103(3): 342—363

© В. Ю. Баркалов,¹ М. М. Козыренко,¹ Е. В. Артюкова,¹
О. А. Мочалова²

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *SALIX* СЕКЦИИ *MYRTOSALIX* (*SALICACEAE*) СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ АЗИИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МЕЖГЕННЫХ СПЕЙСЕРОВ ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК

¹ Федеральный научный центр Биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии ДВО РАН,
пр. 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022, Россия
E-mail: barkalov@ibss.dvo.ru

² Институт биологических проблем Севера ДВО РАН,
ул. Портовая, 18, Магадан, 685000, Россия
Поступила 29.11.2017

Исследованы популяционная структура и филогенетические взаимоотношения 19 видов *Salix* Северо-Восточной Азии, относимых к секции *Myrtosalix* подрода *Chamaetia* в классификационных схемах разных авторов, по данным полиморфизма межгенных спейсеров *trnS-psbZ*, *trnC-petN* и *petN-psbM* хлоропластной ДНК. Уровень нуклеотидного и гаплотипического разнообразия в популяциях изменяется в пределах 0.0000—0.0119 и 0.000—1.000 соответственно. Анализ последовательностей 378 образцов выявил 49 гаплотипов (S1—S49), из них 27 (55.1 %) были уникальными. Гаплотип S1, имеющий наибольшую частоту встречаемости (33.9 %), обнаружен у 128 образцов 15 видов и является, по-видимому, анцестральным гаплотипом. Сеть генеалогических связей гаплотипов показывает отсутствие каких-либо филогенетических групп. Согласно результатам AMOVA, более 80 % всей генетической изменчивости приходится на внутривидовую составляющую ($F_{ST} = 0.19249$, $P < 0.0001$). Секция *Myrtosalix* включает отдельные виды (*S. jurtzevii*, *S. khokhriakovii*, *S. nummularia*, *S. recurvigemmis*), возникшие, вероятно, в результате внутри- или

межсекционной гибридизации с последующей интрогрессией и аллополиплоидией (сетчатый характер эволюции). Присутствие общих гаплотипов у большинства исследуемых видов указывает на общность их происхождения и на относительно недавнюю дивергенцию, а наличие разных гаплотипов свидетельствует о том, что секция *Myrtosalix* является, возможно, гетерогенной. В целом взаимоотношения видов этой секции остались до конца неразрешенными.

Ключевые слова: *Salix*, *Myrtosalix*, Salicaceae, популяция, межгенные спейсеры *trnS—psbZ*, *trnC—petN*, *petN—psbM*, хлоропластная ДНК, филогенетические взаимоотношения, Северо-Восточная Азия.

Род *Salix* L. — крупнейший в сем. Salicaceae. По данным разных авторов, в нем насчитывается от 300 до 450 видов, широко распространенных преимущественно в холодных и умеренных областях Северного полушария, с многообразием в северных широтах Евразии и Северной Америки, а также в горах Китая (Skvortsov, 1968; Nedoluzhko, 1995; Argus, 1997, 2010; Fang et al., 1999; Ohashi, 2001). Одной из трудностей в систематике *Salix* отмечается сравнительная легкость возникновения межвидовых гибридов (Skvortsov, 1966), что особенно характерно для сравнительно молодых подродов *Chamaetia* (Dumort.) Nasarow и *Vetrix* (Dumort.) Dumort. При этом, по мнению А. К. Скворцова (Skvortsov, 1968), естественные гибриды между видами разных секций возникают, пожалуй, чаще, чем между видами одной секции. Это в какой-то мере создает трудности и при выяснении филогенетических взаимоотношений видов с использованием молекулярных маркеров. До сих пор существуют противоречия между классификационными схемами, основанными на морфологических и молекулярных признаках. Дискуссионным остается вопрос о подразделении рода *Salix* на подроды и о положении ранее выделяемых родов *Chosenia* Nakai и *Toisusu* Kimura. Нет полной ясности как в отношении статуса отдельных видов, так и их секционной принадлежности.

Большая часть работ, основанных на использовании ДНК-маркеров, посвящена филогении рода *Salix* (Leskinen, Alström-Rapoport, 1999; Azuma et al., 2000; Chen et al., 2010; Hardig et al., 2010; Barkalov, Kozyrenko, 2014a, b; Wu et al., 2015; Lauron-Moreau et al., 2015). Так, сравнение нуклеотидных последовательностей ITS ядерной рибосомальной ДНК (ядДНК) и 10 регионов хлоропластной ДНК (хпДНК) у 86 видов из трех подродов *Salix*, *Chamaetia* (Dumort.) Nasarow и *Vetrix* (Dumort.) Dumort., а также *Chosenia arbutifolia* (Pall.) А. К. Skvortsov (Barkalov, Kozyrenko, 2014a) выявило слабую дивергенцию между видами подрода *Salix* в широком его понимании (Skvortsov, 1968); *C. arbutifolia* включалась в род *Salix*; взаимоотношения подродов *Chamaetia* и *Vetrix* остались неразрешенными — у большинства видов последовательности различались несколькими заменами или были идентичны. Исследование филогенетических отношений 122 американских видов *Salix* по данным секвенирования ITS яДНК, *matK* и *rbcL* хпДНК (Lauron-Moreau et al., 2015) показало, что род подразделяется на два подрода — *Salix* и *Vetrix*, последний из них включает выделенный ранее на основе морфологических признаков подрод *Chamaetia*, а также азиатские роды *Chosenia* (*S. arbutifolia* (Pall.) А. К. Skvortsov) и *Toisusu* (*S. cardiophylla* С. А. Mey.), вид *S. triandra* L. из подрода *Salix*, при этом генетическое разнообразие низкое.

Изучение северо-восточноазиатских видов комплекса *Salix* aggr. *berberifolia* из подрода *Chamaetia* с помощью маркеров хлоропластного генома (Barkalov, Kozyrenko, 2017) выявило низкий уровень изменчивости и генетическую однородность группы, образовавшейся, вероятно, в результате относительно недавней и быстрой дивергенции от общего предка и высокой степени интрогрессивной гибридизации. Комплекс «барбарисолистных» ив был условно подразделен на две близкородственные группы, первая из них включает *S. berberifolia* Pall.

s. str., *S. fimbriata* (A. K. Skvortsov) Czerep. и *S. kamtschatica* (A. K. Skvortsov) Vorosch., вторая — *S. tschuktschorum* A. K. Skvortsov, *S. kimurana* (Miyabe et Tatew.) Miyabe et Tatew. и *S. vyshinii* (Nedol.) Petruk, при этом два последних вида, вероятно, конспецифичны (Barkalov, Kozyrenko, 2017).

Согласно Сковрцову (Skvortsov, 1968), подрод *Chamaetia* на северо-востоке Азии представлен пятью секциями: *Chamaetia* Dumort., *Glaucæ* Pax (включая *Ovalifoliae* (Rydb.) C. K. Schneid. и *Diplodictyæ* C. K. Schneid.), *Myrtilloides* Koehne, *Myrtosalix* A. Kern. и *Retusæ* A. Kern. (включая *Herbella* Seringe). При разграничении секций систематиками часто используется комплекс признаков, из которых основными являются жизненная форма, наличие или отсутствие подземных столонов (гипогеогенных ксилоризом), опадение или сохранность на побегах отмерших листьев. Положение видов внутри того или иного подрода, объемом секций и подсекций являются традиционно предметом дискуссии и зависят от взгляда того или иного автора (Skvortsov, 1968, 1972; Khokhryakov, 1979; Nedoluzhko, 1995; Petruk, 2009a, b; Argus, 1997, 2010; Baikov, Petruk, 2012, и др.). Сковрцов (Skvortsov, 1968) рассматривал секцию *Myrtosalix* в качестве цельной и естественной группы. Лишь два вида — *S. rotundifolia* Trautv. и *S. phlebophylla* Andersson, по его мнению, сильно подвергшиеся редукции, несколько выпадают из общей характеристики секции, напоминая виды секции *Retusæ* A. Kern. Он полагал, что секция *Myrtosalix* и секция *Retusæ* представляют две отчетливые эволюционные линии, но трудности заключаются в том, какие виды помещать в каждую из них. В секцию *Myrtosalix* в более поздних классификационных схемах нередко включаются виды *S. erythrocarpa* Kom., *S. nummularia* Andersson, *S. khokhriakovii* A. K. Skvortsov, *S. recurvigemmis* A. K. Skvortsov, *S. fuscescens* Andersson, *S. polaris* Wahlenb. (табл. 1), относимые Сковрцовым (Skvortsov, 1968) к другим секциям.

ТАБЛИЦА 1

Виды *Salix* Северо-Восточной Азии, относимые к секции *Myrtosalix* в классификационных схемах разных авторов

TABLE 1. Species of the Northeast Asian *Salix* assigned to the section *Myrtosalix* in the classification schemes of various authors

Вид Species	Классификационные схемы Classification schemes			
	Skvortsov, 1968, 1972	Nedoluzhko, 1995 (секция/подсекция) (section/subsection)	Argus, 1997	Baikov, Petruk, 2012
<i>S. berberifolia</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. chamissonis</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix/Deciduae</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. erythrocarpa</i>	<i>Chamaetia</i>	<i>Myrtosalix/Erythrocarpae</i>	<i>Chamaetia</i>	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. fimbriata</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. fuscescens</i>	<i>Myrtilloides</i>	<i>Myrtilloides</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtilloides</i>
<i>S. integerrima</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	<i>Myrtosalix/Deciduae</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. jurtzevii</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	<i>Retusæ</i>	—	<i>Retusæ</i>
<i>S. kamtschatica</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	[<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>]	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. khokhriakovii</i>	—	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. kimurana</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. magadanensis</i>	[<i>Chamaetia</i>]	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. nummularia</i>	<i>Retusæ</i>	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	<i>Retusæ</i>	<i>Glaucæ</i>

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Вид Species	Классификационные схемы Classification schemes			
	Skvortsov, 1968, 1972	Nedoluzhko, 1995 (секция/подсекция) (section/subsection)	Argus, 1997	Baikov, Petruk, 2012
<i>S. phlebophylla</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Retusae</i>
<i>S. polaris</i>	<i>Retusae</i>	<i>Retusae</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Retusae</i>
<i>S. recurvigemmis</i>	<i>Lanatae</i>	<i>Myrtosalix/Deciduae</i>	—	<i>Lanatae</i>
<i>S. rotundifolia</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Retusae</i>	<i>Retusae</i>	<i>Retusae</i>
<i>S. saxatilis</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. schmidtiana</i>	—	—	—	—
<i>S. tschuktschorum</i>	<i>Myrtosalix</i>	<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>	—	<i>Myrtosalix</i>
<i>S. vyshinii</i>	[<i>Myrtosalix</i>]	[<i>Myrtosalix/Sempervirentes</i>]	—	<i>Myrtosalix</i>

Примечание. Названия секций даны по А. К. Скворцову (Skvortsov, 1968). В квадратных скобках показана секционная принадлежность видов, принимаемых авторами в ранге подвида или выделенных позднее из близкородственных видов.

Note. Names of the sections are given according to Skvortsov (1968). The sectional affiliation of species taken by the authors at the rank of subspecies or separated later from closely related species is shown in brackets.

Секция *Myrtosalix*, следуя описанию Скворцова (Skvortsov, 1968), включает небольшие или карликовые кустарники, у которых генеративные почки заметно крупнее вегетативных, при этом прилистники развиты. У большинства видов листья не опадают на зиму, а сохраняются засохшими на ветвях в течение нескольких лет. Нектарников в тычиночных цветках один или два. Для видов характерно опушение завязи из извилистых или смятых, лентовидных, сильно преломляющих свет волосков. По данным разных авторов, секция *Myrtosalix* насчитывает от 12—15 видов (Skvortsov, 1999) до 21 (Argus, 2010); в Азиатской России — 15 (Baikov, Petruk, 2012), Северной Америке — 5 (Argus, 2010), Китае и Северной Корее — по два вида (Skvortsov, 1999; Fang et al., 1999), а в Японии — только один вид (Ohashi, 2001). Виды этой секции широко распространены в тундрах и альпийском поясе гор бореальной Евразии и Северной Америки с концентрацией их в Северной Азии.

В настоящем исследовании предпринято изучение популяционной структуры и филогенетических взаимоотношений северо-восточноазиатских видов секции *Myrtosalix* в широком ее понимании по данным полиморфизма межгенных спейсеров *trnS—psbZ*, *trnC—petN* и *petN—psbM* хлДНК. Большая часть материала собрана на Колымском нагорье и хр. Большой Туоннах (система хр. Черского), поскольку «хребет Черского и соседние с ними районы Колымского нагорья — один из наиболее богатых современных очагов видового разнообразия в секциях *Myrtosalix* и *Retusae*» (Yurtsev, Zhukova, 1982: 785).

Материал и методика

Материалом для исследования послужили 378 образцов из 47 природных популяций 19 видов *Salix* подрода *Chamaetia* (табл. 2). В анализ включены виды *S. fuscescens*, *S. khokhriakovii*, *S. nummularia*, *S. polaris*, *S. recurvigemmis*, которые

ТАБЛИЦА 2

Происхождение образцов *Salix* секции *MyrtoSalix* и код популяции
 TABLE 2. The origin of samples *Salix* of sect. *MyrtoSalix* and code population

Вид Species	Код популяции Code of population	Происхождение образца (число образцов) The origin of sample (number of samples)
<i>S. berberifolia</i> Pall.	BER29	Амурская обл., Атагский хребет, ручей Большой Курумкан Amur Region, Atagskii Ridge, Bol'shoi Kurumkan stream (4)
	BER148	Хабаровский край, Баджалский хребет, ручей Каменистый Khabarovsk Territory, Badzhal'skii Ridge, stream Kamenistyi (3)
<i>S. chamissonis</i> Andersson	CHA18	Камчатка, верховье р. Киревна, гора Алней Kamchatka, upper Kirevna River, Alnei Mt. (18)
	CHA25	Камчатка, Усть-Камчатский р-н, вулкан Толбачик Kamchatka, Ust'-Kamchatskii district, Tolbachik volcano (3)
	CHA73	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoye Plateau, Skif Mt. (18)
	CHA127	Магаданская обл., п-ов Пьягина, залив Кекурный Magadan Region, P'yagina Peninsula, Kekurnyi Bay (3)
	CHA201	Магаданская обл., Ольское плато, верховье р. Ола Magadan Region, Ol'skoye Plateau, upper Ola River (8)
	CHA219	Камчатка, оз. Явинское к северу от пос. Озерновский Kamchatka, Yavinskoye Lake north of Ozernovskii settlement (1)
<i>S. erythrocarpa</i> Kom.	ERY11	Камчатка, верховье р. Киревна, гора Алней Kamchatka, upper Kirevna River, Alnei Mt. (15)
<i>S. fimbriata</i> (A. K. Skvortsov) Cherep.	FIM102	Магаданская обл., хр. Большой Туоннах, гора Эзоп Magadan Region, Bol'shoi Tuonnakh Ridge, Ezop Mt. (2)
	FIM131	Магаданская обл., бассейн р. Колыма, гора Замковая Magadan Region, Kolyma River basin, Zamkovaya Mt. (5)
	FIM141	Магаданская обл., бассейн р. Колыма, гора Замковая Magadan Region, Kolyma River basin, Zamkovaya Mt. (2)
<i>S. fuscescens</i> An- dersson	FUS2	Сахалин, Охинский р-н, пос. Москальво Sakhalin, Okhinskii District, Moskal'vo settlement (15)
	FUS163	Сахалин, Ногликский р-н, устье р. Малая Вени Sakhalin, Noglikskii District, mouth of Malaya Veni River (1)
	FUS213	Амурская обл., хр. Тукурингра, р. Мотовая Amur Region, Tukuringra Ridge, Motovaya River (1)
	FUS228	Сахалин, Ногликский р-н, устье р. Малая Вени Sakhalin, Noglikskii District, mouth of Malaya Veni River (3)
	FUS232	Шантарские острова, о-в Феклистов Shantar Islands, Feklistov Isl. (2)
<i>S. integerrima</i> (Vorosch.) Nedol.	INT64	Сахалин, Набильский хребет, перевал Чамгинский Sakhalin, Nabil'skii Ridge, Chamginskii Pass (3)
<i>S. jurtzevii</i> A. K. Skvortsov	JUR33	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoye Plateau, Skif Mt. (1)
	JUR65	Магаданская обл., Ольское плато, окр. горы Скиф Magadan Region, Ol'skoye Plateau, vicinity of Skif Mt. (14)

ТАБЛИЦА 2 (продолжение)

Вид Species	Код популяции Code of population	Происхождение образца (число образцов) The origin of sample (number of samples)
<i>S. kamtschatica</i> (A. K. Skvortsov) Vorosh.	JUR196	Магаданская обл., хр. Большой Туоннах, гора Эзоп Magadan Region, Bol'shoi Tuonnakh Ridge, Ezop Mt. (15)
<i>S. khokhriakovii</i> A. K. Skvortsov	КАМ12	Камчатка, верховье р. Киревна, гора Алней Kamchatka, upper Kirevna River, Alnei Mt. (13)
<i>S. kimurana</i> (Miyabe et Tatew.) Miyabe et Tatew.	КНО32	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoeye Plateau, Skif Mt. (16)
<i>S. magadanensis</i> Nedol.	КНО66	Магаданская обл., Ольское плато, окрестности горы Скиф Magadan Region, Ol'skoeye Plateau, vicinity of Skif Mt. (5)
<i>S. nummularia</i> Andersson	КНО123	Магаданская обл., Ольское плато, перевал Яблоневиый Magadan Region, Ol'skoeye Plateau, Yablonevuyi Pass (4)
<i>S. phlebophylla</i> Andersson	КНО209	Магаданская обл., хр. Большой Туоннах, гора Эзоп Magadan Region, Bol'shoi Tuonnakh Ridge, Ezop Mt. (1)
<i>S. polaris</i> Wahlenb.	КИМ62	Сахалин, Набилский хребет, перевал Чамгинский Sakhalin, Nabil'skii Ridge, Chamginskii Pass (4)
<i>S. recurvigemmis</i> A. K. Skvortsov	КИМ239	Сахалин, верховье р. Витница, гора Вайда Sakhalin, upper Vitnitsa River, Vaida Mt. (5)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	MAG34	Магаданская обл., Ольский р-н, о-в Завьялова Magadan Region, Ol'skii District, Zaviyalova Isl. (1)
<i>S. schmidtiana</i> Barkalov	NUM31	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoeye Plateau, vicinity of Skif Mt. (1)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	PHL57	Амурская обл., Атагский хребет, ручей Большой Курумкан Amur Region, Atagskii Ridge, Bol'shoi Kurumkan stream (1)
<i>S. recurvigemmis</i> A. K. Skvortsov	POL17	Камчатка, верховье р. Киревна, гора Алней Kamchatka, upper Kirevna River, Alnei Mt. (16)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	POL24	Камчатка, верховье р. Киревна, гора Алней Kamchatka, upper Kirevna River, Alnei Mt. (16)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	REC43	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoeye Plateau, Skif Mt. (15)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	REC188	Хабаровский край, хр. Сихотэ-Алинь, гора Тардоки-Яни Khabarovsk Territory, Sikhote-Alin' Ridge, Mt. Tardoki-Yani (9)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	SAX9	Сахалин, Ногликский р-н, р. Большой Гаромай Sakhalin, Noglikskii district, Bol'shoi Garomai River (14)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	SAX87	Магаданская обл., хребет Большой Туоннах, р. Медвежья Magadan Region, Bol'shoi Tuonnakh Ridge, Medvezh'ya River (13)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	SAX92	Магаданская обл., Ольский р-н, р. Окса Magadan Region, Ol'skii District, Oksa River (13)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	SCH7	Сахалин, п-ов Шмидта, к югу от горы Левенштерна Sakhalin, Shmidt Peninsula, south of Levenshterna Mt. (10)
<i>S. saxatilis</i> Turcz. ex Ledeb.	SCH8	Сахалин, п-ов Шмидта, к югу от горы Левенштерна Sakhalin, Shmidt Peninsula, south of Levenshterna Mt. (14)

ТАБЛИЦА 2 (продолжение)

Вид Species	Код популяции Code of population	Происхождение образца (число образцов) The origin of sample (number of samples)
<i>S. tschuktschorum</i> А. К. Skvortsov	SCH143	Сахалин, п-ов Шмидта, р. Талики Sakhalin, Shmidt peninsula, Taliki River (7)
	TSC36	Чукотка, Билибинский р-н, верховье р. Двойная Chukotka, Bilibinskii District, upper Dvoynaya River (3)
	TSC88	Магаданская обл., хребет Большой Туоннах, гора Эзоп Magadan Region, Bol'shoi Tuonnakh Ridge, Ezop Mt. (18)
	TSC116	Магаданская обл., Ольское плато, гора Скиф Magadan Region, Ol'skoye Plateau, Skif Mt. (18)
	TSC195	Магаданская обл., Омсукчанский р-н, Килганские горы Magadan Region, Omsukchanskii District, Kilganskiye Mountains (18)
	TSC257	Магаданская обл., Северо-Эвенский р-н, верховье р. Кегали Magadan Region, Severo-Evenskii District, upper Kegali River (3)
<i>S. vyshinii</i> (Nedol.) Petruk	VYS189	Хабаровский край, хребет Сихотэ-Алинь, гора Тардоки-Яни Khabarovsk Territory, Sikhote-Alin' Ridge, Tardoki-Yani Mt. (5)
<i>S. pseudopentandra</i> (Flod.) Flod.	PSPEN19	Камчатка, Усть-Камчатский р-н, вулкан Толбачик Kamchatka, Ust'-Kamchatskii District, Tolbachik volcano

в классификационных схемах разных авторов (Nedoluzhko, 1995; Argus, 1997; Baikov, Petruk, 2012) помещались в секцию *Myrtosalix*, а также недавно описанный с Сахалина вид *S. schmidtiana* Barkalov (Barkalov, 2012), с предположением о принадлежности его к этой секции (табл. 1). В качестве внешней группы для филогенетических анализов был взят образец *S. pseudopentandra* (Flod.) Flod. из подрода *Salix*. Ваучерные образцы растений хранятся в гербарии Федерального научного центра Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (VLA). Авторы таксонов приведены по базе данных International Plant Names Index (IPNI) (<http://www.ipni.org/ipni/authorssearchpage.do>). Названия и объем секций приняты по Скворцову (Skvortsov, 1968), а для видов — узкая трактовка.

Индивидуальные препараты тотальной ДНК выделены из высушенных листьев с использованием набора DNeasy Plant Mini Kits (Qiagen, Hilden, Germany) согласно протоколу производителя. Для анализа генетической дивергенции выбрали использованные нами ранее (Barkalov, Kozyurenko, 2017) межгенные спейсеры *trnS-psbZ*, *trnC-petN* и *petN-psbM* хпДНК. Амплификацию этих регионов проводили с использованием универсальных праймеров, реакционных условий и температурных режимов, рекомендованных для этих участков (Demesure et al., 1995; Heinze, 2007; Hamza-Babiker et al., 2009). Нуклеотидные последовательности прямых и обратных цепей определяли на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, USA), затем редактировали и собирали с помощью пакета программ Staden Package v. 1.5 (Bonfeld et al., 1995). Для каждого образца последовательности регионов выравнивали вручную с использованием программы SeaView v. 4 (Galtier et al., 1996) и объединяли в одну матрицу.

Число гаплотипов (*nh*), гаплотипическое (*h*) и нуклеотидное (π) разнообразие, распределение генетической изменчивости внутри и между популяциями

(AMOVA, анализ молекулярной дисперсии) рассчитывали с помощью программы Arlequin v. 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010). Генеалогические связи гаплотипов анализировали методом Median Joining (MJ) в программе NetWork v. 5.0 (Bandelt et al., 1999), кодируя каждую делецию или вставку (индель) независимо от их размера как единичное мутационное событие. Филогенетический анализ последовательностей выявленных гаплотипов проводили методами максимальной экономии (Maximum Parsimony, MP) и ближайшего связывания (Neighbour-Joining, NJ) с помощью пакета программ PAUP v. 4.0b10 (Swofford, 2003). Для NJ-анализа оптимальную модель эволюции нуклеотидных последовательностей выбирали в программе Modeltest v. 3.06 (Posada, Crandall, 1998) с использованием иерархических тестов. При MP-анализе последовательностей индели, которые являются важными информативными признаками в некодирующих последовательностях ДНК (Pleines et al., 2009), учитывали как бинарные характеристики (Simmons, Ochoterena, 2000) или как дополнительный признак. Для MP-анализа применяли эвристический поиск оптимальной топологии. Статистическую достоверность порядка ветвления оценивали с помощью бутстреп-анализа 1000 альтернативных деревьев (Bootstrap Percentage, BP, %).

Результаты

Для 378 растений *Salix* определены нуклеотидные последовательности трех регионов хпДНК, общая длина объединенных последовательностей после выравнивания составила 1523 пн. В матрице нуклеотидных последовательностей исследуемых образцов обнаружены вариации длины мононуклеотидных повторов (два поли-Т мотива), индели разной длины и 23 вариабельных сайта, из которых 12 были информативны согласно методу максимальной экономии. Уровень нуклеотидного и гаплотипического разнообразия в популяциях видов секции *Murtosalix* изменяется в пределах 0.0000—0.0183 и 0.000—1.000 соответственно (табл. 3). Пять популяций — FIM102 *S. fimbriata*; REC188 *S. recurvigemmis*; SCH8 и SCH143 *S. schmidtiana*; TSC116 *S. tschuktschorum* — оказались мономорфными. Наибольшим нуклеотидным разнообразием характеризуется популяция КНО66 *S. khokhriakovii* с Ольского плато (Магаданская обл.). Согласно результатам AMOVA, более 80 % всей генетической изменчивости приходится на внутривидовую составляющую ($F_{ST} = 0.19249$, $P < 0.0001$).

Анализ 378 последовательностей выявил 49 гаплотипов (S1—S49), 27 (55.1 %) из них были уникальными. Гаплотип S1, имеющий наибольшую частоту встречаемости (33.9 %), обнаружен у 128 образцов 15 видов из 19 исследуемых и является, по-видимому, анцестральным (предковым) гаплотипом. Затем по уменьшению частот следует гаплотип S2 (16.4 %), который присутствовал у 62 образцов 13 видов, и S6 (12.4 %) — у 47 образцов 10 видов. Наличие общих гаплотипов у близкородственных видов, имеющих определенные морфологические отличия, можно объяснить тем, что в результате интрогрессии органеллярная ДНК одного вида может иногда замещаться таковой близкородственных видов (Brunsfield et al., 1992; Hardig et al., 2000). Для выявления генеалогических связей между гаплотипами построена сеть, в которой отсутствуют какие-либо филогенетические группы (рис. 1). Большинство гаплотипов образуют хорошо выраженные звездчатые структуры с одним из гаплотипов S1, S2 и S6 в центре, которые связаны между собой через один мутационный шаг. Присутствие в гаплотипической сети звездчатых структур указывает на общность происхождения («эффект основа-

ТАБЛИЦА 3

Генетическое разнообразие популяций видов *Salix* по данным хпДНКTABLE 3. Genetic diversity in populations of *Salix* species according to cpDNA data

Популяция Population	Разнообразие / Diversity		Гаплотип Haplotype
	нуклеотидное nucleotide (SD)	гаплотипическое haplotype (SD)	
BER29	0.0046 (0.0033)	0.833 (0.222)	S1, S2, S3
BER148	0.0097 (0.0075)	1.000 (0.272)	S3, S4, S5
CHA18	0.0017 (0.0011)	0.784 (0.085)	S1, S2, S4, S6, S7, S8, S9
CHA25	0.0060 (0.0048)	1.000 (0.272)	S1, S2, S10
CHA73	0.0051 (0.0028)	0.680 (0.109)	S1, S7, S11, S12 , S13, S14
CHA127	0.0083 (0.0065)	0.667 (0.314)	S15, S16
CHA201	0.0015 (0.0011)	0.929 (0.084)	S1, S6, S11, S14, S17, S18
CHA219	—	—	S6
ERY11	0.0028 (0.0017)	0.667 (0.099)	S1, S2, S7, S19
FIM102	0.0000 (0.0000)	0.000 (0.000)	S6
FIM131	0.0061 (0.0048)	1.000 (0.272)	S1, S2, S3
FIM141	0.0014 (0.0017)	1.000 (0.500)	S6, S20
FUS2	0.0097 (0.0051)	0.829 (0.085)	S1, S2, S6, S11, S13, S15, S21, S22
FUS163	—	—	S1
FUS213	—	—	S6
FUS228	0.0009 (0.0010)	0.667 (0.314)	S1, S15
FUS232	0.0076 (0.0080)	1.000 (0.500)	S6, S23
INT64	0.0019 (0.0017)	0.667 (0.314)	S14, S24
JUR33	—	—	S1
JUR65	0.0012 (0.0008)	0.571 (0.132)	S6, S11, S25, S26
JUR196	0.0002 (0.0002)	0.257 (0.142)	S2, S15, S27
KAM12	0.0003 (0.0003)	0.385 (0.132)	S1, S2
KHO32	0.0017 (0.0011)	0.683 (0.091)	S1, S2, S3, S6, S28
KHO66	0.0183 (0.0114)	1.000 (0.126)	S1, S6, S18, S29, S30
KHO123	0.0010 (0.0009)	0.500 (0.265)	S1, S28
KHO209	—	—	S1
KIM62	0.0028 (0.0021)	0.833 (0.222)	S1, S18, S19
KIM239	0.0025 (0.0018)	0.600 (0.175)	S1, S19
MAG34	—	—	S21
NUM31	—	—	S2
PHL57	—	—	S2
POL17	0.0027 (0.0016)	0.900 (0.062)	S1, S6, S8, S11, S31, S32, S33, S34, S35, S36
POL24	0.0004 (0.0004)	0.508 (0.126)	S1, S31, S36
REC43	0.0053 (0.0029)	0.829 (0.082)	S1, S2, S6, S11, S19, S37, S38
REC188	0.0000 (0.0000)	0.000 (0.000)	S1
SAX9	0.0119 (0.0063)	0.824 (0.098)	S1, S13, S15, S35, S39, S40, S41, S42
SAX87	0.0005 (0.0005)	0.385 (0.132)	S1, S4
SAX92	0.0053 (0.0030)	0.872 (0.091)	S2, S6, S7, S15, S17, S19, S43, S44, S45
SCH7	0.0003 (0.0003)	0.378 (0.181)	S1, S2, S11
SCH8	0.0000 (0.0000)	0.000 (0.000)	S2
SCH143	0.0000 (0.0000)	0.000 (0.000)	S6
TSC36	0.0060 (0.0048)	0.667 (0.314)	S1, S46

ТАБЛИЦА 3 (продолжение)

Популяция Population	Разнообразие / Diversity		Гаплотип Haplotype
	нуклеотидное nucleotide (SD)	гаплотипическое haplotype (SD)	
TSC88	0.0049 (0.0027)	0.765 (0.055)	S1, S3, S6, S47, S48
TSC116	0.0000 (0.0000)	0.000 (0.000)	S1
TSC195	0.0006 (0.0005)	0.425 (0.099)	S1, S49
TSC257	0.0005 (0.0006)	0.667 (0.314)	S6, S17
VYS189	0.0017 (0.0013)	0.400 (0.237)	S1, S19

Примечание. SD — стандартное отклонение; жирным шрифтом отмечены уникальные гаплотипы. Код популяции см. табл. 2.

Note. SD — standard deviation; unique haplotypes are marked with bold. For the population codes see Table 2.

теля») составляющих их гаплотипов (Slatkin, Hudson, 1991; Shao, Xiang, 2015). Филогенетический анализ 49 гаплотипов методами MP и NJ дал деревья сходной топологии. На рис. 2 представлено MP-дерево, в котором взаимоотношения между большинством таксонов остаются неразрешенными, но при этом можно выделить статистически поддерживаемые группы, образованные гаплотипами S25 и S26 популяции JUR65 *S. jurtzevii* A. K. Skvortsov (83 и 84 % в MP и NJ анализах

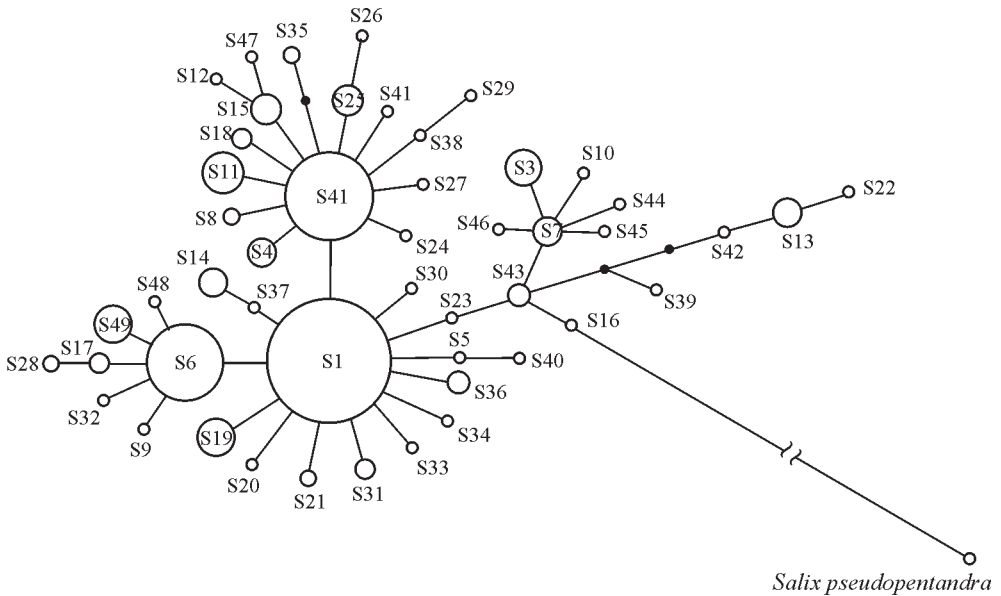
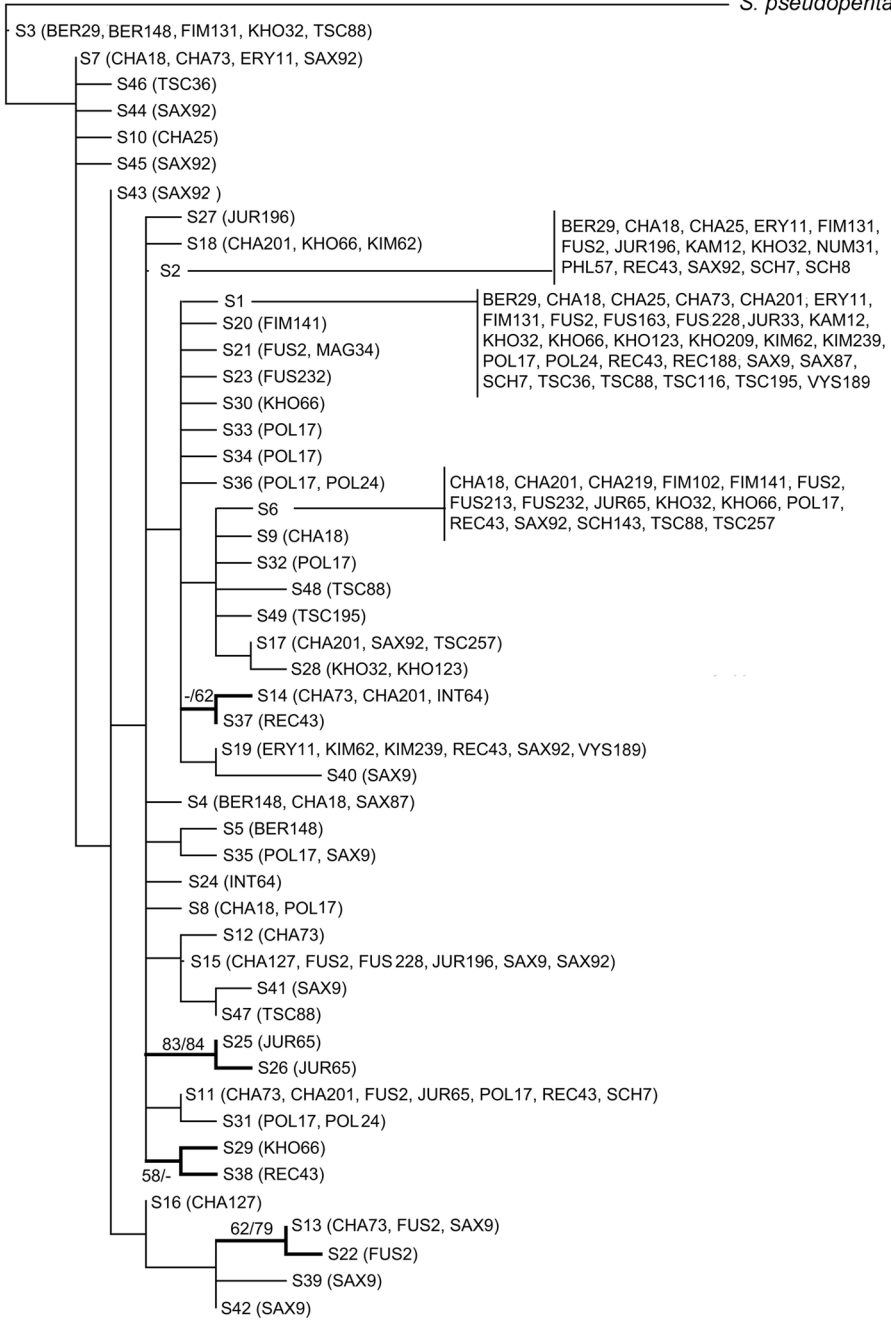


Рис. 1. Генеалогическая сеть гаплотипов хлДНК представителей видов *Salix*, построенная с помощью MJ-метода.

Размер окружностей отражает частоту встречаемости гаплотипов, маленькие черные кружки — медианные векторы. В качестве внешней группы использован образец *S. pseudopentandra*.

Fig. 1. Genealogical network of cpDNA haplotypes of *Salix* species constructed by means of the MJ method.

The size of the circles reflects the haplotype frequency; small black circles represent median vectors. The sample of *S. pseudopentandra* was used as an outgroup.



соответственно) или гаплотипами популяций разных видов S13 (*S. chamissonis* Andersson, *S. fuscescens*, *S. saxatilis* Turcz. ex Ledeb.) и S22 (*S. fuscescens*) с более низкими поддержками (62 и 79 %). Кроме этого, можно отметить две слабо поддерживаемые группы и только в одном из анализов: одну (62 % в NJ-анализе) образовали гаплотипы S14 видов *S. chamissonis* и *S. integerrima* (Vorosch.) Nedol. и S37 *S. recurvigemmis*, другую (58 % в MP-анализе) — гаплотипы S29 *S. khokhriakovii* и S38 *S. recurvigemmis*.

Обсуждение

Скворцов (Skvortsov, 1972) отметил, что *Salix jurtzevii* общим обликом, характером роста, размерами, положением и структурой пестичной сережки более всего похожа на *S. rotundifolia*, но также имеет существенные отличия: острые почки, форма, большее число жилок и зубчатый край листьев, образование сеточки жилок при разрушении отмерших листьев. «Различия в характере листа и почек дают повод думать, что ива Юрцева, возможно, возникла в результате морфологической редукции другой ветви развития, нежели та, которая привела к *S. rotundifolia*» (Skvortsov, 1972: 99). В качестве возможных родственников из других ветвей, по его мнению, могли быть *S. turczaninowii* Laksch. (почки острые, край листа зубчатый) и *S. phlebophylla* (образование сеточки жилок при разрушении старых листьев). Хохряков (Khokhryakov, 1979) включил *S. jurtzevii* в подсекцию *Sempervirentes* A. P. Khokhr. секции *Myrtosalix* вместе с *S. khokhriakovii*, *S. rotundifolia*, *S. darpirensis* Jurtzev et A. P. Khokhr., *S. erythrocarpa*, *S. tshuktschorum*, у которых листья не опадают на зиму, а сохраняются засохшими на побегах в течение нескольких лет. Скворцов (Skvortsov, 1972) непосредственно не указал секционной принадлежности *S. jurtzevii*, но поскольку в протологе этого вида отмечено ближайшее родство с *S. rotundifolia*, относимого им (Skvortsov, 1968) к секции *Myrtosalix*, надо полагать, что и *S. jurtzevii* принадлежит той же секции. В. А. Недолужко (Nedoluzhko, 1990, 1995) и А. А. Петрук (Petruk, 2009a) поместили *S. jurtzevii* в секцию *Retusae*, основываясь на признаке присутствия подземных столонов. Ранее и Скворцов (Skvortsov, 1966) относил *S. rotundifolia* к той же секции. Нами исследовано 30 образцов из трех популяций *S. jurtzevii* и выявлено 8 гаплотипов, из которых два уникальные. По набору гаплотипов популяции с Ольского плато (JUR33 и JUR64) и хр. Большой Туоннах (JUR196) резко различаются между собой (табл. 3). Гаплотипы S1, S2 и S5, выявленные у *S. jurtzevii*, являются общими с большинством включенных в анализ видов. Общие гап-

Рис. 2. MP-дерево гаплотипов представителей видов *Salix*, построенное на основе сравнения нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров *trnZ-psbM*, *trnC-petN* и *petN-psbM* хлДНК (длина — 80 шагов, индекс соответствия CI = 0.7625, индекс гомоплазии HI = 0.2375, индекс удерживания RI = 0.7625).

Числами в узлах ветвлений обозначены значения индекса бутстрепа (выше 50 %), рассчитанные для MP/NJ методов (выше 50 %). Утолщенными линиями выделены статистически поддерживаемые группы. В качестве внешней группы использован образец *S. pseudopentandra*. Код популяции см. табл. 1.

Fig. 2. MP tree for haplotypes of *Salix* species based on comparison of sequence data for cpDNA intergenic spacers *trnZ-psbM*, *trnC-petN* and *petN-psbM* (tree length 80 steps, consistency index CI = 0.7625, homoplasy index HI = 0.2375, retention index RI = 0.7625).

Numbers at nodes indicate the bootstrap support values calculated for the MP/NJ (above 50 %). The statistically supported groups are accented with thickened lines. The sample of *S. pseudopentandra* was used as an outgroup. For the population codes see Table 1.

лотипы указывают на родство с видами как секции *Myrtosalix* (*S. berberifolia* s. l., *S. chamissonis* и др.), так и секции *Retusae* (*S. polaris*).

По результатам фенетического анализа G. Argus (1997) отнес *S. polaris* к секции *Myrtosalix*, и его ближайшими соседями являются *S. rotundifolia* и *S. phlebophylla*. Позднее он (Argus, 2010) перенес *S. polaris* в секцию *Retusae* (как sect. *Herbella*) с предположением, что этот полиплоидный вид является, возможно, межсекционным гибридом. В публикациях российских авторов (Skvortsov, 1966, 1968; Nedoluzhko, 1990, 1995; Petruk, 2009a, 2011; Baikov, Petruk, 2012) *S. polaris* помещается в секцию *Retusae*. Сворцов (Skvortsov, 1968) отмечал, что родственные связи секции *Retusae* пока мало ясны, наиболее вероятная связь с секцией *Glaucae*, менее очевидна — с секцией *Myrtosalix*, и предположил, что секция *Retusae*, возможно, гетерогенная. В двух популяциях *S. polaris* с горы Алней на Камчатке (POL17 и POL24, по 15 растений каждая) выявлено 10 гаплотипов, из которых S1 общий у большинства популяций анализируемых видов, три уникальные, а S31 и S36 — только у этого вида. Все 10 гаплотипов обнаружены в POL17 и лишь три в POL24 (табл. 3). Популяция POL17 представлена крупными растениями, растущими на сырых лужайках в подножии каменистого склона в альпийском поясе. Популяция POL24 характеризуется мелкими растениями, встречающимися массово там же в нивальных растительных сообществах. Растения в POL17 типичного для *S. polaris* облика и каких-либо следов гибридизации с другими видами из соседнего окружения не выявлено. Наибольшее гаплотипические разнообразие популяции из крупных растений связано, возможно, с уровнем плоидности, так как у *S. polaris* выявлены хромосомные расы с $2n = 90$ и 114 (Petrovsky, Zhukova, 1983). Поскольку варьирование признаков (размеры листьев и сережек, толщина и степень одревеснения ветвей и подземных побегов) наблюдается во многих популяциях, было предложено отказаться от отнесения наиболее крупных экземпляров этого вида к отдельному подвиду *S. polaris* subsp. *pseudopolaris* (Flod.) Hultén (Petrovsky, Zhukova, 1983). Результаты проведенного нами молекулярного анализа не позволили разрешить секционную принадлежность *S. polaris*, но показали, что популяции крупных растений характеризуются большим гаплотипическим разнообразием.

Обычно *S. fuscescens* помещается в секцию *Myrtilloides* вместе с *S. myrtilloides* L. (Skvortsov, 1968; Nedoluzhko, 1990, 1995; Ohashi, 2001; Baikov, Petruk, 2012). Однако Argus (1997) по данным фенетического анализа перенес *S. fuscescens* в секцию *Myrtosalix*. Петрук (Petruk, 2009b) на основании изучения морфологии пыльцевых зерен установила, что *S. fuscescens* отличается от *S. myrtilloides*, и поместила первый вид вместе с другим близким видом *S. alexii-skvortzovii* А. Р. Khokhr. в особую подсекцию *Fuscescentes* Petruk секции *Myrtilloides*. В секции *Myrtilloides* пыльцевые зерна крупные, с равноячейистой скульптурой и одновременно с отсутствием пор, что характерно для *S. myrtilloides* (Petruk, 2009a). Сворцов (Skvortsov, 1968) обратил внимание на весьма неясное положение секции *Myrtilloides*: «отчасти она сходна с *Retusae*; но не исключено, что она окажется лишь редуцированным сравнительно поздним производным от *Vetrix* (от секции *Vetrix* или *Incubaceae*)» (Skvortsov, 1968: 78). Последнее вполне вероятно, если учесть тот факт, что в опушении растений *S. fuscescens* и *S. myrtilloides* присутствуют огненно-рыжие волоски, которые характерны для многих видов подрода *Vetrix* (*S. udensis* Trautv. et C. A. Mey., *S. hastata* L., *S. taraiensis* Kimura, *S. vulpina* Andersson, *S. reinii* Franch., *S. dshugdshurica* A. K. Skvortsov и др.) и даже подрода *Salix* (*S. nipponica* Franch.), но совершенно отсутствуют у других представителей подрода *Chamaetia*. В фенетических анализах (Argus, 1997) бли-

жайшими соседями *S. fuscescens* являются виды секций *Myrtosalix* (*S. phlebophylla*), *Diplodictyae* (*S. sphenophylla* A. K. Skvortsov), *Myrtilloides* (*S. myrtilloides*). На Сахалине и северных Курильских островах *S. fuscescens* очень часто гибридизирует с *S. udensis* из подрода *Vetrix* в местах совместного произрастания. Подобный гибрид известен под названием *S. × kudoii* Kimura, при этом встречаются формы, уклоняющиеся к одному из родительских видов. В одной из сахалинских популяций *S. fuscescens* (FUS2, 15 образцов) выявлено 8 гаплотипов, из которых один уникальный. Популяция представлена относительно высокорослыми (до 1.2 м) зарослями ивы по песчаному берегу небольшого озера. Подобные растения с довольно крупными листьями с Северного Сахалина и Нижнего Амура Скворцов (Skvortsov, 1966) отнес к подвиду *S. fuscescens* subsp. *poronaica* (Kimura) A. K. Skvortsov. Однако следует заметить, что вид *S. poronaica* Kimura, описанный из окрестностей Поронайска на Сахалине (Kimura, 1934), где он встречается на болоте, вероятно, окажется лишь гибридом *S. fuscescens* с *S. caprea* L., конспецифичным с *S. × tatewakii* Kimura, происходящим из тех же мест.

С учетом общей схемы побегообразования, строения пестичной сережки, а также характерному анатомическому строению листа вид *S. erythrocarpa* Скворцовым (Skvortsov, 1966) отнесен к секции *Chamaetia*. Хохряков (Khokhryakov, 1979) перенес его в секцию *Myrtosalix*, что, по мнению Недолужко (Nedoluzhko, 1995), обоснованно и было принято в его монографической обработке *Salicaceae*. По общей морфологии и морфологии пыльцевых зерен (с разноячеистой и более сглаженной скульптурой экзины) *S. erythrocarpa* ближе к секции *Myrtosalix* (Petruk, 2009b). В популяции *S. erythrocarpa* (ERY11, 15 образцов) выявлено 4 гаплотипа и все они являются общими для видов комплекса *S. aggr. berberifolia*, *S. saxatilis*, *S. chamissonis* — типичных представителей той же секции *Myrtosalix*. Растения каменистых склонов вблизи морского побережья в окрестностях Магадана, относимые Скворцовым и Хохряковым к *S. erythrocarpa*, были выделены Недолужко (Nedoluzhko, 1989) в особый вид *S. magadanensis* Nedol. Этот автор (Nedoluzhko, 1995) поместил *S. magadanensis* в подсекцию *Sempervirentes* секции *Myrtosalix*, а *S. erythrocarpa* отнес к установленной им ранее (Nedoluzhko, 1990) подсекции *Erythrocarpa* Nedol. той же секции (табл. 1). Исследованный нами образец *S. magadanensis* имел гаплотип S21, общий с *S. fuscescens* (FUS2), но отсутствующий у близкородственного вида *S. erythrocarpa*.

Salix khokhriakovii Скворцов (Skvortsov, 1972) поместил в секцию *Myrtosalix* и отметил, что по признакам этот вид занимает промежуточное положение между *S. tschuktschorum* и *S. saxatilis*, но при этом обратил внимание на шелковистое опушение завязи *S. khokhriakovii*, не свойственное представителям секции *Myrtosalix*, что заставляет подумать о возможности гибридного происхождения *S. khokhriakovii*, предположительно, от скрещивания *S. tschuktschorum* × *S. pulchra* Cham. В поддержку происхождения *S. khokhriakovii* от межсекционной гибридизации указывает не только шелковистое опушение завязи, но и желтоватые рыльца, ланцетно-шиловидные прилистники, что сближает его с *S. pulchra* из подрода *Vetrix*. У *S. tschuktschorum* и *S. saxatilis* опушение из извилистых, лентовидных, преломляющих свет волосков или вовсе отсутствует, рыльца красноватые, прилистники яйцевидные или продолговато-яйцевидные, более крупные. Вид *Salix khokhriakovii* был отнесен Хохряковым (Khokhryakov, 1979) к ряду *Myrsinites* (Hook.) Moss. подсекции *Sempervirentes*. Петрук (Petruk, 2009b) отметила, что *S. khokhriakovii* выделяется в секции *Myrtosalix* по макроморфологическим признакам в целом и по строению пыльцевых зерен (усеченный полюс, ячейки более или менее одинакового размера, округлые и продолговатые). Она

также отнесла этот вид к ряду *Myrsinites* той же подсекции вместе с *S. tschuktschorum* и европейской *S. myrsinites* L. Другие же дальневосточные виды комплекса «барбарисолистных» ив — *S. berberifolia*, *S. fimbriata*, *S. kamtschatica*, *S. kimurana* и *S. vyshinii* — Петрук (Petruk, 2011) поместила в установленную ей подсекцию *Berberifoliae* Petruk. Однако отсутствие генетических различий между парами видов *S. kimurana*—*S. tschuktschorum*, *S. kimurana*—*S. vyshinii*, *S. tschuktschorum*—*S. vyshinii* (Barkalov, Kozyrenko, 2017) может указывать на очень близкое родство *S. kimurana* и *S. vyshinii* между собой и с *S. tschuktschorum*, помещенных Петрук (Petruk, 2011) в разные подсекции. У 25 исследуемых образцов трех популяций *S. khokhriakovii* с Ольского плато (КНО32, КНО66 и КНО123) выявлено 8 гаплотипов, из них только два уникальные. С одним из предполагаемых родительских видов (*S. tschuktschorum*) обнаружено три общих гаплотипа, из которых S1 и S6 характерны для большей части анализируемых видов, а S3 встречается еще лишь в группе «барбарисолистных» ив (*S. berberifolia*, *S. fimbriata*, *S. tschuktschorum*), что может быть подтверждением ранее высказанного Скворцовым (Skvortsov, 1972) предположения относительно происхождения *S. khokhriakovii*.

Как уже отмечалось (Barkalov, Kozyrenko, 2017), *S. kimurana* и *S. vyshinii*, относящиеся к комплексу «барбарисолистных» ив, вероятно, конспецифичны. Подтверждением этого может служить общий у этих видов гаплотип S19, который не обнаружен нами в популяциях других видов комплекса. Однако этот гаплотип встречается также в популяциях *S. erythrocarpa*, *S. recurvigemmis* и *S. saxatilis*. У видов *S. berberifolia* и *S. fimbriata*, несмотря на резкие различия в морфологии, обнаружены общие гаплотипы S1—S3 (табл. 3). Гаплотипическое разнообразие *S. tschuktschorum* из комплекса «барбарисолистных» ив низкое — 7 гаплотипов, из них три уникальные, хотя нами исследовано большое количество образцов из значительно удаленных друг от друга пяти популяций (табл. 2, 3), и это полиплоидный вид с числом хромосом $2n = 114$ (Zhukova et al., 1973).

Скворцов (Skvortsov, 1968) отнес *S. recurvigemmis* к секции *Lanatae* Коehne подрода *Vetrix*. Но такие черты, как лоснящиеся листья, опушение завязи сильно преломляющими свет волосками, указывают на сходство вида с секцией *Myrtosalix*. Позднее (Khokhryakov, 1972; Nedoluzhko, 1995) этот вид был перенесен в подсекцию *Deciduae* А. Р. Khokhr. секции *Myrtosalix*. У *Salix recurvigemmis* известно только диплоидное число хромосом — $2n = 38$ (Zhukova, 1968). В популяции REC43 *S. recurvigemmis* выявлено 7 гаплотипов, пять из которых присутствуют у большинства исследованных видов. Скворцов (Skvortsov, 1968) отмечал родственные связи секции *Lanatae* и отчасти секции *Myrtosalix* с секцией *Nastatae* подрода *Vetrix*. На рис. 2 *S. recurvigemmis* группируется с *S. khokhriakovii*, но только в одном из анализов и с низкой поддержкой (58 % в NJ-анализе). Это может указывать на то, что виды образовались в результате гибридизации с видами секции *Myrtosalix*, например, из комплекса «барбарисолистных» ив. У обоих видов в фенотипе имеются сходные морфологические признаки с секцией *Myrtosalix*, отмеченные нами выше. Вопрос о секционной принадлежности *S. recurvigemmis* остается пока открытым. Возможно, этот вид произошел в результате межсекционной гибридизации.

Помимо *S. recurvigemmis* к подсекции *Deciduae* секции *Myrtosalix* отнесены *S. saxatilis*, *S. integerrima*, *S. chamissonis* (Nedoluzhko, 1995). С горы Лопатина на Сахалине описан подвид *S. chamissonis* subsp. *integerrima* Vorosch. (Voroschilov, 1981), который позднее (Nedoluzhko, 1990) был возведен в ранг вида — *S. integerrima* (Vorosch.) Nedol. Недолужко (Nedoluzhko, 1995) высказал мнение о том,

что данный вид, несомненно, близок к *S. saxatilis*, а не к *S. chamissonis*. Нами проанализировано всего три образца *S. integerrima*, у которых обнаружено два гаплотипа: уникальный S24 и S14, встречающийся также в популяциях СНА73 и СНА201 *S. chamissonis*, но отсутствующий в популяциях *S. saxatilis*. Кроме того, в МР-филогенетическом дереве гаплотип S14 *S. integerrima* образует группу с гаплотипами *S. chamissonis* и *S. recurvigemmis*, но с относительно низкой поддержкой — 62 % (рис. 2). Эти факты ставят под сомнение близкое родство *S. integerrima* и *S. saxatilis*.

На северо-востоке Азии *S. saxatilis* проявляет некоторый полиморфизм в морфологических признаках. На Сихотэ-Алине и Джугджуре встречаются растения с густо опушенными молодыми побегами и листьями. На песчаных холмах Северного Сахалина среди тундровой растительности весьма обычна распластанная форма со слабым опушением всех частей растения, с укороченными побегами и глянцевыми мелкими листьями, описанная как *S. nyiwensis* Kimura (Kimura, 1934). В том же районе, но чаще по окраинам зарослей кедрового стланика, представлена кустарниковая форма с приподнимающимися и сильно удлиненными ростовыми побегами, а также с густым беловато-серовато волосистым опушением матовых листьев. Подобные растения были описаны под названием *S. stoloniferoides* Kimura (Kimura, 1934). Оба упомянутых вида сведены в синонимы *S. saxatilis* (Skvortsov, 1968; Nedoluzhko, 1995). В цитологическом отношении *S. saxatilis* также неоднородна и на северо-востоке Азии представлена хромосомными расами с $2n = 38$ (Petrovsky, Zhukova, 1983), 76 (Zhukova, 1967), 114 (Petrovsky, Zhukova, 1983). Нами исследовано 40 образцов *S. saxatilis* из трех популяций и выявлено 17 гаплотипов, из которых 6 (S39—S42, S44, S45) являются уникальными. Наибольшим гаплотипическим разнообразием ($h = 0.872$, табл. 3) отличается популяция SAX92 из долины р. Окса в Магаданской обл., только в ней обнаружен гаплотип S43 у пяти образцов, отсутствующий у всех других исследуемых видов. Растения этой популяции отличались от цельнолистной формы (например, популяция SAX87 из долины р. Медвежья в Магаданской обл.) лишь расставленно-пильчатым краем листа. Можно предположить, что пильчатые листья — результат гибридизации с *S. tschuktschorum* (отсутствующей в ближайших окрестностях); именно так определялись Хохряковым некоторые образцы в гербарных коллекциях. Однако пильчатолистная форма *S. saxatilis* также выявлена В. В. Якубовым в окрестностях оз. Карбохон на Буреинском хребте (VLA), где видов из родства *S. berberifolia* не обнаружено. Лишь немного меньшим гаплотипическим разнообразием ($h = 0.824$, табл. 3) характеризуется сахалинская популяция SAX9 *S. saxatilis*, представленная растениями с цельнокрайными листьями. Следует отметить, что в популяциях SAX9 и SAX92 обнаружен только один общий гаплотип S15, который встречается еще в сахалинских популяциях FUS2 и FUS228 *S. fuscescens*. Факт значительных генетических отличий магаданских и сахалинских популяций вида может указывать на то, что мы имеем дело с разными таксонами, вероятно, внутривидового ранга.

У *S. chamissonis* варьируют габитус растений, форма и размеры листьев, опушение плодов, но полиморфизм морфологических признаков, как и генетических, не столь выраженный по сравнению с *S. saxatilis*. Однако растения с Камчатки характеризуются более крупными размерами, мелкопильчатым или расставленно-пильчатым краем листа, крупными сережками, опушенными плодами, которые вполне соответствуют виду *S. pulchroides* Kimura, описанному с северных Курильских островов (Kimura, 1934) и сведенному Скворцовым (Skvortsov, 1968) в синонимы *S. chamissonis*. Растения с Ольского плато и особенно из окре-

стностей Эликчанских озер в Магаданской обл. отличаются мелкими размерами всех частей. Их стволы чаще полупогруженные в травяно-моховую дернину, листья очень мелкие, округлые или овально-округлые, по краю мельчайше зубчатые (напоминающие край шестеренки), с пурпурными жилками, плоды мелкие, совершенно голые. Возможно, подобные растения заслуживают выделения в качестве внутривидового таксона. Из 9 гаплотипов, обнаруженных в популяциях СНА73 и СНА201 *S. chamissonis* с Ольского плато, только 3 гаплотипа (S1, S6, S7) являются общими с камчатскими популяциями СНА18 и СНА25. Вид относится к полиплоидам с $2n = 114$ (Zhukova, 1968), и ближайшими соседями в фенетическом анализе из евразийских видов являются *S. arctica* Pall., *S. fuscescens*, *S. myrsinites* (Argus, 1997). Всего в пяти популяциях *S. chamissonis* исследован 51 образец и выявлено 16 гаплотипов, но только четыре (S9, S10, S12, S16) уникальные.

Salix schmidtiana Barkalov, описанная с севера Сахалина и распространенная в нескольких пунктах на хр. Восточный в восточной части п-ова Шмидта, где произрастает только на выходах ультраосновных пород, в протологе сравнивалась с *S. ovalifolia* Trautv. и *S. sphenophylla* (Barkalov, 2012). Даже в пределах небольшой популяции у *S. schmidtiana* наблюдается варьирование признаков: габитус от кустарника с приподнимающимися побегами до приземистого, листья от цельнокрайных до расставлено-мелкозубчатых, прилистники от развитых (до 3 мм) до рудиментарных, плоды от голых до частично опушенных. Все это может указывать на гибридное происхождение или являться следствием воздействия агрессивной щелочной среды. Подобный полиморфизм в признаках наблюдается также у видов из родов *Tephroses* (Rchb.) Rchb., *Leontopodium* R. Br. ex Cass., *Erigeron* L., *Cerastium* L., *Saxifraga* L., *Poa* L., встречающихся в тех же местообитаниях. Опушение плодов из извилистых, преломляющих свет волосков, длинные (до 9 см) плодущие сережки, почернение побегов при сушке могут указывать на родство *S. schmidtiana* с видами секции *Myrtosalix*, например, с *S. chamissonis*. Выявленные гаплотипы S1, S2, S6, S11 в популяциях *S. schmidtiana* общие с *S. fuscescens* и *S. chamissonis*.

Salix nummularia помещается чаще в секцию *Retusae* (Kimura, 1934; Skvortsov, 1968; Dorn, 1976; Argus, 1997, 2010; Fang et al., 1999; Ohashi, 2001) или реже в секцию *Myrtosalix* (Nedoluzhko, 1995). Ближайшие соседи *S. nummularia* в фенетическом анализе — представители секций *Retusae*, *Myrtosalix* и *Ovalifoliae* — *S. phlebophylla*, *S. stolonifera* Coville, *S. herbacea* L., *S. rotundifolia* (Argus, 1997). В Азии к *S. herbacea* очень близок вид *S. turczaninowii*. На основании признаков, таких как отсутствие подземных столонов, диморфизм побегов, общий габитус растений, строение пыльцевых зерен, Петрук (Petruk, 2009b, 2011) исключила *S. nummularia* из секции *Retusae* и поместила в секцию *Glaucuae*. У вида мелкие трехбороздно-поровые пыльцевые зерна с равноячейистой скульптурой экзины и ровной поверхностью пор, что по данным этого автора отличает *S. nummularia* от представителей секции *Retusae*. Сходство *S. nummularia* с *S. ovalifolia* Trautv. из секции *Glaucuae* проявляется в диморфизме побегов: короткие со сближенными узлами и хлыстовидные с расставленными узлами. Скворцов (Skvortsov, 1968, с. 77) высказал предположение о том, что «от общего корня с *Glaucuae*, наиболее вероятно, произошли *Retusae* (отчасти, впрочем, имеющие сходство с *Myrtosalix*)», что подтверждается результатами фенетических анализов в отношении *S. nummularia* (Argus, 1997). Нами исследован только один образец *S. nummularia* с Ольского плато, у которого выявлен гаплотип S2, общий с популяциями большинства относимых к секции *Myrtosalix* и включенных в анализ видов (табл. 1),

за исключением популяций *S. kimurana*, *S. tschuktschorum* и *S. vyshinii*, а также *S. polaris*, безусловно принадлежащей секции *Retusae*. Этот же гаплотип встречается у *S. phlebophylla*, относимой Скворцовым (Skvortsov, 1968) и Argus (2010) к секции *Myrtosalix*. Секционная принадлежность *S. nummularia* на основании генетических данных не выяснена. В достаточной степени фрагментированный ареал этого циркумполярного вида может косвенно указывать на относительно древнее происхождение, уходящее к общим корням секций *Glaucæ* и *Retusæ*.

Таким образом, выявлен низкий уровень изменчивости нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров *trnS-psbZ*, *trnC-petN* и *petN-psbM* хлДНК. Сеть генеалогических связей гаплотипов показывает отсутствие каких-либо филогенетических групп. Присутствие общих гаплотипов у большинства исследуемых видов указывает на общность их происхождения и на относительно недавнюю дивергенцию, а наличие разных гаплотипов свидетельствует о том, что секция *Myrtosalix* является, возможно, гетерогенной. Отдельные виды этой секции (*S. jurtzevii*, *S. khokhriakovii*, *S. nummularia*, *S. recurvigemmis*) возникли, вероятно, в результате внутри- или межсекционной гибридизации с последующей интрогрессией и аллополиплоидией (сетчатый характер эволюции). В целом взаимоотношения видов секции *Myrtosalix* остались до конца неразрешенными, что говорит о необходимости дополнительных исследований с привлечением большего материала и других маркеров ДНК.

Благодарности

Мы благодарим В. А. Бакалина (Ботанический сад-институт ДВО РАН, г. Владивосток) и Л. А. Антонову (Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, г. Хабаровск) за сбор образцов некоторых видов *Salix*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-01966) и частично фундаментальных исследований по программе «Дальний Восток» (проект № 18-4-011).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Argus G. W. 1997. Infrageneric classification of *Salix* (Salicaceae) in the New World. — *Syst. Bot. Monographs*. 52: 1—121.
- Argus G. W. 2010. *Salix*. Flora of North America North of Mexico. Vol. 7. Oxford. P. 23—51.
- Azuma T., Kajita T., Yokoyama J., Ohashi H. 2000. Phylogenetic relationships of *Salix* (Salicaceae) based on *rbcL* sequence data. — *Amer. J. Bot.* 87: 67—75.
- [Baikov, Petruk] Байков К. С., Петрук А. А. 2012. Сем. Salicaceae. — В кн.: (Малышев Л. И. и др.). Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения. Новосибирск. С. 138—147.
- Bandelt H. J., Forster P., Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. — *Mol. Biol. Evol.* 16(1): 37—48.
- [Barkalov] Баркалов В. Ю. 2012. Новые виды *Salix* (Salicaceae) с российского Дальнего Востока. — *Бот. журн.* 97(6): 797—806 (с вклейкой).
- Barkalov V. Yu., Kozyrenko M. M. 2014a. Phylogenetic analysis of the Far Eastern *Salix* (Salicaceae) based on sequence data from chloroplast DNA regions and ITS of nuclear ribosomal DNA. — *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*. 3(1): 3—19.
- [Barkalov, Kozyrenko] Баркалов В. Ю., Козыренко М. М. 2014b. Филогенетические отношения видов *Salix* subg. *Salix* (Salicaceae) по данным секвенирования межгенных спейсеров хлоропластного генома и ITS ядерной рибосомальной ДНК. — *Генетика*. 50(8): 940—949
- [Barkalov, Kozyrenko] Баркалов В. Ю., Козыренко М. М. 2017. Генетические взаимоотношения видов *Salix* aggr. *berberifolia* Pall. (*Myrtosalix*, Salicaceae) северо-восточной Азии по данным секвенирования маркеров хлоропластного генома. — *Бот. журн.* 102(1): 47—62.

- Bonfeld J. K., Smith K. F., Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program. — Nucl. Acids Res. 23: 4992—4999.
- Brunsfeld S. J., Soltis D. E., Soltis P. S. 1992. Evolutionary pattern and processes in *Salix* sect. *Logifoliae*: evidence from chloroplast DNA. — Syst. Bot. 17: 239—256.
- Chen J. H., Sun H., Wen J., Yang Y. P. 2010. Molecular phylogeny of *Salix* L. (Salicaceae) inferred from three chloroplast datasets and its systematic implications. — Taxon. 59: 29—37.
- Demesure B., Sodzi N., Petit R. J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. — Mol. Ecol. 4: 129—131.
- Dorn R. D. 1976. A synopsis of American *Salix*. — Can. J. Bot. 54: 2769—2789.
- Excoffier L., Lischer H. E. L. 2010. Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. — Mol. Ecol. Res. 10: 564—567.
- Fang Cheng-fu, Zhao Shi-dong, Skvortsov A. K. 1999. Salicaceae Mirb. — In: Flora of China. Vol. 4. Beijing; St. Louis. P. 139—274.
- Galtier N., Gouy M., Gautier C. 1996. SEAVIEW and PHYLO_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. — Comp. Appl. Biosci. 12: 543—548.
- Hamza-Babiker N., Heinze B., Glossl J., Arnold C. 2009. Chloroplast DNA identification of eight closely related European *Salix* species. — Aust. J. Forest Sci. 126: 175—193.
- Hardig T. M., Anttila C. K., Brunsfeld S. J. 2010. A phylogenetic analysis of *Salix* (Salicaceae) based on *matK* and ribosomal DNA sequence data. — J. Bot. Article ID 197696. 12 pages. Doi: 10.1155/2010/197696.
- Hardig T. M., Brunsfeld S. J., Fritz R. S., Morgan M., Orians C. M. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. — Mol. Ecol. 9(1): 9—24.
- Heinze B. 2007. A database of PCR primers for the chloroplast genomes of higher plants. — Plant Methods. 3—4: 1—7.
- [Khokhriakov] Хохряков А. П. 1979. Ивы (*Salix* L.) подсекции *Sempervirentes* Khokhr. секции *Myrtosalix* Kerner на северо-востоке Азии. — Новости сист. высш. раст. 15: 93—96.
- Kimura A. 1934. Enumeratio Salicarum in insulis Yezoensi, Sachalinensi et Kurilensibus sponte crescentium. — In: Miyabe K., Kudo Y. Flora of Hokkaido and Saghalien IV. P. 391—452.
- Lauron-Moreau A., Pitre F. E., Argus G. W., Labrecque M., Brouillet L. 2015. Phylogenetic relationships of American willows (*Salix* L., Salicaceae). — PLoS ONE 10 (4): e0121965. Doi: 10.1371/journal.pone.0121965
- Leskinen E., Alström-Rapoport C. 1999. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: Evidence from 5.8 S, ITS 1 and ITS 2 of the rDNA. — Plant Syst. Evol. 215: 209—227.
- [Nedoluzhko] Недолужко В. А. 1989. Новый вид ивы из Магаданской области. — Бюл. Главн. бот. сада АН СССР. 153: 29—31.
- [Nedoluzhko] Недолужко В. А. 1990. Конспект ивовых Salicaceae советского Дальнего Востока. — В сб.: Хорология и таксономия растений советского Дальнего Востока. Владивосток. С. 83—100.
- [Nedoluzhko] Недолужко В. А. 1995. Сем. Ивовые — Salicaceae Mirb. — В кн.: Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 7. СПб. С. 145—212.
- Ohashi H. 2001. Salicaceae of Japan. — Sci. Rep. Tohoku Univ. Series 4. Biology. 40(4): 269—396.
- [Petrovsky, Zhukova] Петровский В. В., Жукова П. Г. 1983. Числа хромосом, морфология, экология и таксономия ив Северо-Востока Азии. — Бот. журн. 68(1): 29—38.
- [Petruk] Петрук А. А. 2009а. Новые подсекции и ряды секции *Retusae* A. Kern. рода *Salix* L. (Salicaceae) для флоры Азиатской России. — Новости сист. высш. раст. Т. 41. М.; СПб. С. 69—72.
- [Petruk] Петрук А. А. 2009б. Морфология пыльцевых зерен представителей подрода *Chamaetia* рода *Salix* (Salicaceae) по данным электронной микроскопии. — Растительный мир Азиатской России. 1(3): 53—59.
- [Petruk] Петрук А. А. 2011. Обзор подрода *Chamaetia* рода *Salix* в Азиатской России. — Растительный мир Азиатской России. 1: 31—35.
- Pleines T., Jakob S. S., Blattnerl F. R. 2009. Application of non-coding DNA regions in intraspecific analyses. — Plant Syst. Evol. 282: 281—294.
- Posada D., Crandall K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. — Bioinformatics. 14: 817—818. DOI: 10.1093/bioinformatics/14.9.817
- Shao Y.-Z., Xiang Q.-P. 2015. Species delimitation and phylogeography of the *Abies chensiensis* complex inferred from morphological and molecular data. — Bot. J. Linn. Soc. 177(2): 175—188.
- Simmons M. P., Ochoterena H. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. — Syst. Biol. 49: 369—381.
- [Skvortsov] Скворцов А. К. 1966. Salicaceae. — В кн.: Арктическая флора СССР. Т. 5. М.; Л. С. 7—118.

- [Skvortsov] Скворцов А. К. 1968. Ивы СССР. Систематический и географический обзор. М. 262 с.
- [Skvortsov] Скворцов А. К. 1972. Две новые ивы из Магаданской области. — *Новости сист. высш. раст.* 9: 96—102.
- Skvortsov A. K. 1999. Two new species of *Salix* (Salicaceae) from Eastern Asia. *Harvard Papers in Botany*. 4(1): 322—326.
- Slatkin M., Hudson R. R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. — *Genetics*. 129: 555—562.
- Swofford D. L. PAUP* 2003. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.04. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- [Voroshilov] Ворошилов В. Н. 1981. Два новых таксона с Сахалина. — *Бюл. Главн. бот. сада АН СССР*. 119: 26—27.
- Wu J., Nyman T., Wang D.-C., Argus G. W., Yang Y.-P., Chen J.-H. 2015. Phylogeny of *Salix* subgenus *Salix* s. l. (Salicaceae): delimitation, biogeography, and reticulate evolution. — *BMC Evol. Biol.*, published online: 04 March 2015. Doi: 10.1186/s12862-015-0311-7
- [Yurtsev, Zhukova] Юрцев Б. А., Жукова П. Г. 1982. Хромосомные числа некоторых растений Северо-Восточной Якутии: (бассейн среднего течения реки Индигирки). — *Бот. журн.* 67(6): 778—788.
- [Zhukova] Жукова П. Г. 1967. Числа хромосом у некоторых видов растений Крайнего Северо-Востока СССР. II. — *Бот. журн.* 52(7): 983—987.
- [Zhukova] Жукова П. Г. 1968. Числа хромосом у некоторых видов растений Северо-Востока СССР. III. — *Бот. журн.* 53(3): 365—368.
- [Zhukova et al.] Жукова П. Г., Петровский В. В., Плиева Т. В. 1973. Хромосомные числа и таксономия некоторых видов растений Сибири и Дальнего Востока. — *Бот. журн.* 58(9): 1331—1342.

Botanicheskii Zhurnal, 2018. 103(3): 342—363

V. Yu. Barkalov,¹ M. M. Kozyrenko,¹ E. V. Artyukova,¹
O. A. Mochalova²

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *SALIX* SECT. MYRTOSALIX
SPECIES (SALICACEAE) FROM NORTHEAST ASIA BASED
ON THE ANALYSIS OF INTERGENIC SPACERS OF CHLOROPLAST DNA

¹ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS
Stoletiya Ave., 159, Vladivostok, 690024, Russia
E-mail: barkalov@ibss.dvo.ru

² Institute of Biological Problems of the North FEB RAS
Portovaya Str., 18, Magadan, 685000, Russia

Population structure and phylogenetic relationships of 19 *Salix* species from the Northeast Asia, attributed by different authors to the sect. *Myrtosalix* of subg. *Chamaetia*, have been investigated based on sequence data of the *trnS-psbZ*, *trnC-petN* and *petN-psbM* intergenic spacers of chloroplast DNA. The levels of nucleotide and haplotype diversity in the populations ranged from 0.0000 to 0.0119 and from 0.000 to 1.000, respectively. By comparing sequences from 378 specimens, 49 haplotypes (S1-S49) were revealed, 27 (55.1 %) of them were unique. The S1 haplotype having the highest frequency of occurrence (33.9 %) was found in 128 samples of 15 species and could be regarded as the ancestral haplotype. The genealogical network of haplotypes showed the absence of any phylogenetic groups. AMOVA test showed that the majority of variation (more than 80 %) occurred within the populations ($F_{ST} = 0.1925$, $P < 0.0001$). The sect. *Myrtosalix* includes some species (*S. jurtzevii*, *S. khokhriakovii*, *S. nummularia*, *S. recurvigemmis*) that may have been derived from intra- or intersectional hybridization along with introgression and allopolyploidy (a reticulate evolution). The presence of common haplotypes in most of the studied species indicates their common origin and relatively recent divergence, and the presence of several different haplotypes suggests that sect. *Myrtosalix* is possibly heterogeneous. In general, the relationships between species of this section remained largely unresolved.

Key words: *Salix*, Myrtosalix, Salicaceae, population, intergeneric spacers *trnS-psbZ*, *trnC-petN*, *petN-psbM*, chloroplast DNA, phylogeny, Northeast Asia.

Acknowledgements

We are grateful to V. A. Bakalin (Botanical Garden-Institute, FEB RAS, Vladivostok) and L. A. Antonova (Institute of Water and Ecological Problems FEB RAS, Khabarovsk) for collecting some *Salix* specimens.

The study was financially supported by Russian Foundation for Basic Research (grant N 15-04-01966) and partly by the Program of basic research «Far East» (grant N 18-4-011 to V. Yu. Barkalov).

REFERENCES

- Argus G. W. 1997. Infrageneric classification of *Salix* (Salicaceae) in the New World. — Syst. Bot. Monographs. 52: 1—121.
- Argus G. W. 2010. *Salix*. Flora of North America North of Mexico. Vol. 7. Oxford. P. 23—51.
- Azuma T., Kajita T., Yokoyama J., Ohashi H. 2000. Phylogenetic relationships of *Salix* (Salicaceae) based on *rbcL* sequence data. — Amer. J. Bot. 87: 67—75.
- Baikov K. S., Petruk A. A. 2012. Salicaceae Family. — In: (Malyshev L. I. et al.) A Synopsis of the Asian Russia Flora: vascular plants. Novosibirsk. P. 138—147. (In Russ.).
- Bandelt H. J., Forster P., Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. — Mol. Biol. Evol. 16(1): 37—48.
- Barkalov V. Yu. 2012. New species of *Salix* (Salicaceae) from the Russian Far East. — Bot. Zhurn. 97(6): 797—806. (In Russ.).
- Barkalov V. Yu., Kozyrenko M. M. 2014a. Phylogenetic analysis of the Far Eastern *Salix* (Salicaceae) based on sequence data from chloroplast DNA regions and ITS of nuclear ribosomal DNA. — Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 3(1): 3—19.
- Barkalov V. Yu., Kozyrenko M. M. 2014b. Phylogenetic relationships of *Salix* L. subgen. *Salix* species (Salicaceae) according to sequencing data of intergeneric spacers of the chloroplast genome and ITS rDNA. — Russian Journal of Genetics. 50(8): 828—837.
- Barkalov V. Yu., Kozyrenko M. V. 2017. Relationships of the *Salix* aggr. *berberifolia* species (Salicaceae) of North-East Asia based on chloroplast genome sequencing markers. — Bot. Zhurn. 102(1): 47—62. (In Russ.).
- Bonfeld J. K., Smith K. F., Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program. — Nucl. Acids Res. 23: 4992—4999.
- Brunsfeld S. J., Soltis D. E., Soltis P. S. 1992. Evolutionary pattern and processes in *Salix* sect. *Logifoliae*: evidence from chloroplast DNA. — Syst. Bot. 17: 239—256.
- Chen J. H., Sun H., Wen J., Yang Y. P. 2010. Molecular phylogeny of *Salix* L. (Salicaceae) inferred from three chloroplast datasets and its systematic implications. — Taxon. 59: 29—37.
- Demesure B., Sodzi N., Petit R. J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. — Mol. Ecol. 4: 129—131.
- Dorn R. D. 1976. A synopsis of American *Salix*. — Can. J. Bot. 54: 2769—2789.
- Excoffier L., Lischer H. E. L. 2010. Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. — Mol. Ecol. Res. 10: 564—567.
- Fang Cheng-fu, Zhao Shi-dong, Skvortsov A. K. 1999. Salicaceae Mirb. — In: Flora of China. Vol. 4. Beijing, St. Louis. P. 139—274.
- Galtier N., Gouy M., Gautier C. 1996. SEAVIEW and PHYLO_WIN: two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. — Comp. Appl. Biosci. 12: 543—548.
- Hamza-Babiker N., Heinze B., Glossl J., Arnold C. 2009. Chloroplast DNA identification of eight closely related European *Salix* species. — Aust. J. Forest Sci. 126: 175—193.
- Hardig T. M., Anttila C. K., Brunsfeld S. J. 2010. A phylogenetic analysis of *Salix* (Salicaceae) based on *matK* and ribosomal DNA sequence data. — J. Bot. Article ID 197696. 12 pages. Doi: 10.1155/2010/197696.
- Hardig T. M., Brunsfeld S. J., Fritz R. S., Morgan M., Orians C. M. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. — Mol. Ecol. 9(1): 9—24.
- Heinze B. 2007. A database of PCR primers for the chloroplast genomes of higher plants. — Plant Methods. 3—4: 1—7.
- Khokhriakov A. P. 1979. Willows (*Salix* L.) of subsection *Sempervirentes* Khokhr. of section *Myrtosalix* Kerner in North-East Asia. — Novosti Sistematiiki Vysshikh Rastenii. 15: 93—96. (In Russ.).

- Kimura A. 1934. Enumeratio Salicarum in insulis Yezoensi, Sachalinensi et Kurilensibus sponte crescentium. — In: Miyabe K., Kudo Y. Flora of Hokkaido and Saghalien IV. P. 391—452.
- Lauron-Moreau A., Pitre F. E., Argus G. W., Labrecque M., Brouillet L. 2015. Phylogenetic relationships of American willows (*Salix* L., Salicaceae). — PLoS ONE 10(4): e0121965. Doi: 10.1371/journal.pone.0121965
- Leskinen E., Alström-Rapoport C. 1999. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: Evidence from 5.8 S, ITS 1 and ITS 2 of the rDNA. — Plant Syst. Evol. 215: 209—227.
- Nedoluzhko V. A. 1989. New species willow of Magadanskaya oblast. — Bulletin of the Main Botanical Garden. 153: 29—31. (In Russ.).
- Nedoluzhko V. A. 1990. Synopsis willows Salicaceae of the Soviet Far East. — In: Horology and taxonomy of plants of the Soviet Far East. Vladivostok. 83—100. (In Russ.).
- Nedoluzhko V. A. 1995. Salicaceae Family. — In: Vascular Plants of the Soviet Far East. Vol. 7. St. Petersburg. 145—212. (In Russ.).
- Ohashi H. 2001. Salicaceae of Japan. — Sci. Rep. Tohoku Univ. Series 4. Biol. 40(4): 269—396.
- Petrovsky V. V., Zhukova P. G. 1983. Chromosome numbers, morphology, Ecology and taxonomy of *Salix* from North-East Asia. — Bot. Zhurn. 68(1): 29—38. (In Russ.).
- Petrak A. A. 2009a. Taxonomic notes on species *Salix* L. (Salicaceae) in flora of the Asian Russia. — Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenii. 41: 73—79. (In Russ.).
- Petrak A. A. 2009b. Morphology of pollen grains of representatives of the subgenus *Chamaetia* of the genus *Salix* (Salicaceae) according to electron microscopy. — Растительный мир Азиатской России. 1(3): 53—59. (In Russ.).
- Petrak A. A. 2011. Review of the subgenus *Chamaetia*, genus *Salix* in the Asian Russia. — Растительный мир Азиатской России. 1: 31—35. (In Russ.).
- Pleines T., Jakob S. S., Blattnerl F. R. 2009. Application of non-coding DNA regions in intraspecific analyses. — Plant Syst. Evol. 282: 281—294.
- Posada D., Crandall K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. — Bioinformatics. 14: 817—818. DOI: 10.1093/bioinformatics/14.9.817
- Shao Y.-Z., Xiang Q.-P. 2015. Species delimitation and phylogeography of the *Abies chensiensis* complex inferred from morphological and molecular data. — Bot. J. Linn. Soc. 177(2): 175—188.
- Simmons M. P., Ochoterena H. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. — Syst. Biol. 49: 369—381.
- Skvortsov A. K. 1966. Salicaceae. — In: Arctic Flora of the USSR. Vol. 5. Moscow, Leningrad. P. 7—118. (In Russ.).
- Skvortsov A. K. 1968. Willows of the USSR. A taxonomic and geographic revision. Moscow. 262 p. (In Russ.).
- Skvortsov A. K. 1972. Two new willows of Magadanskaya oblast. — Novosti systematiki vysshikh rastenii. 9: 96—102. (In Russ.).
- Skvortsov A. K. 1999. Two new species of *Salix* (Salicaceae) from Eastern Asia. — Harvard papers in botany. 4(1): 322—326.
- Slatkin M., Hudson R. R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. — Genetics. 129: 555—562.
- Swofford D. L. PAUP* 2003. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.04. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Voroshilov V. N. 1981. Two new taxa from Sakhalin. — Bulletin of the Main Botanical Garden. 119: 26—27. (In Russ.).
- Wu J., Nyman T., Wang D.-C., Argus G. W., Yang Y.-P., Chen J.-H. 2015. Phylogeny of *Salix* subgenus *Salix* s. l. (*Salicaceae*): delimitation, biogeography, and reticulate evolution. — BMC Evol. Biol., published online: 04 March 2015. Doi: 10.1186/s12862-015-0311-7
- Zhukova P. G. 1967. Chromosome numbers of some species of the Far North-East of the USSR. II. — Bot. Zhurn. 52(7): 983—987. (In Russ.).
- Zhukova P. G. 1968. Chromosome numbers of some species of the North-East of the USSR. III. — Bot. Zhurn. 53(3): 365—368. (In Russ.).
- Zhukova P. G., Petrovsky V. V., Plieva T. V. 1973. Chromosome numbers and taxonomy of some species of Siberia and the Far East. — Bot. Zhurn. 58(9): 1331—1342.
- Yurtsev B. A., Zhukova P. G. 1982. Chromosome numbers of some plants of the Northeastern Yakutia (the drainage of the Indigirka river in the its middle reaches). — Bot. Zhurn. 1982. 67(6): 778—788. (In Russ.).