

Предварительные итоги мониторинга рододендрона короткоплодного (*Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil.) на острове Кунашир (Сахалинская область)

Preliminary results of monitoring of *Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil. in Kunashir island (Sakhalin Region)

Линник Е. В.¹, Дегтярева Г. В.², Ефимов С. В.², Варлыгина Т. И.², Терентьева Е. И.²

Linnik E. V.¹, Degtjareva G. V.², Efimov S. V.², Varlygina T. I.², Terentieva E. I.²

¹ Государственный природный заповедник «Курильский», г. Южно-Курильск, Россия. E-mail: elen-linnik@yandex.ru

¹ State Nature Reserve «Kurilsky», Yuzhno-Kurilsk, Russia

² Ботанический сад Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия.

E-mails: el.terenteva@mail.ru; degavi@mail.ru; efimov-msu@yandex.ru; tat-varlygina@yandex.ru

² Botanical Garden, Moscow State University, Vorobjevy Gory, Moscow, Russia

Реферат. В статье представлены предварительные итоги мониторинга рододендрона короткоплодного (*Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil.), относящегося к категории редких видов о. Кунашир. Проведен морфологический и сравнительный молекулярно-филогенетический анализ образцов *R. brachycarpum* и *R. fauriei* Franch., собранных на острове Кунашир, в Японии (о. Хонсю и Хоккайдо) и на территории Сихотэ-Алинского заповедника. *R. brachycarpum* и *R. fauriei* относятся к видам, отличающимся размытостью видовых границ. В качестве молекулярного маркера были выбраны внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1-5,8S-ITS2) ядерной рибосомной ДНК. Полученные предварительные данные поддерживают точку зрения исследователей, которые рассматривают *R. fauriei* и *R. brachycarpum* как самостоятельные виды.

Ключевые слова. Вересковые, молекулярный анализ, морфология, *Rhododendron brachycarpum*, *Rhododendron fauriei*.

Summary. The study presents preliminary data on monitoring of *Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil., a rare species of the Kunashir island flora. Comparative morphological and molecular phylogenetic analyses were carried out with samples of *R. brachycarpum* and *R. fauriei* Franch from the island of Kunashir, the Sikhote-Alin Nature Reserve, and Japan (Honshu and Hokkaido islands). *R. brachycarpum* and *R. fauriei* are species with fuzzy boundaries concerning systematics. The internal transcribed spacers (ITS1-5.8S-ITS2) in nrDNA were chosen as molecular markers. Preliminary results support the consideration that *R. fauriei* and *R. brachycarpum* are two separate species.

Key words. Ericaceae, molecular analysis, morphology, *Rhododendron brachycarpum*, *Rhododendron fauriei*.

Введение. Род Рододендрон (*Rhododendron* L.) самый большой в семействе Вересковых (Ericaceae) и насчитывает свыше 1200 видов дикорастущих растений. Из 20 видов рододендронов, известных в России, на территории Дальнего Востока произрастает 13 видов. Наибольший интерес представляют 5 видов, занесённых в Красные книги Российской Федерации (2008) и Сахалинской области (2005; 2019), имеющие ограниченный ареал и малочисленные популяции. Для Южных Курил одним из них является рододендрон короткоплодный – *Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil.

Впервые этот вид был описан в Японии: в 1834 г. – как *Rhododendron brachycarpum* D. Don ex G. Don fil., а в 1886 г. – как *R. fauriei* Franch. in Bull. Soc. Philom. (Ohwi, 1965).

В России первоначально считалось, что *R. fauriei* произрастает только на Курильских островах (Итуруп и Кунашир) и только с розовыми цветками (var. *roseum* Nakai) (Ворошилов, 1966). В 1968 г. в Тернейском р-не Приморского края был собран *R. fauriei* с белыми цветками (Воробьев, 1968).

Для Курильских островов его стали называть *R. fauriei* Franch. var. *roseum* Nakai (р. Фори или р. розовый) (Воробьев и др., 1974; Мазуренко, 1980). Позднее С. С. Харкевич и Н. Н. Качура (1981) объединяют *R. brachycarpum* и *R. fauriei* в синонимы и указывают, что в Сахалинской области, на островах Кунашир и Итуруп, произрастает розовоцветковая форма, а на Сихотэ-Алине белоцветковая форма *R. brachycarpum*.

Используя в качестве диагностических признаков окраску цветков и опушенность нижней поверхности листа, В. Н. Ворошилов (1982) выделяет две разновидности *R. brachycarpum*: с белыми цветками и голыми листьями, растёт в Приморье (Тернейский район), и с розовыми цветками, густо опушенными листьями var. *roseum* Nakai, растёт на Курилах (о. Кунашир и о. Итуруп). По данным Т. Yamazaki (1989), *Rhododendron brachycarpum* имеет густое опушение на нижней поверхности листьев, а *R. brachycarpum* f. *fauriae* (Franch.) Murarta характеризуется голыми листьями. При обработке рода в издании «Сосудистые растения советского Дальнего Востока» А. П. Харкевич и М. Т. Мазуренко (1991) считают самостоятельными оба вида, которые хорошо различаются между собой по опушению нижней стороны листа. Они отмечают, что и тот, и другой вид могут быть представлены белоцветковыми и розовоцветковыми формами. В монографии о флоре Курильских островов *R. brachycarpum* и *R. fauriei* указываются как синонимы (Баркалов, 2009). Таким образом, несмотря на многочисленные работы различных авторов, посвящённых систематике *R. brachycarpum* и *R. fauriei*, тем не менее, по-прежнему в определении этих видов существует путаница, поэтому для решения вышеизложенных спорных таксономических вопросов к основным морфологическим признакам для диагностики этих видов необходимо добавить современные молекулярно-генетические методы.

Кроме того, изучение этих видов имеет большое значение при анализе флоры Приморского края и Сахалинской области, так как популяционные, морфологические, биогеографические и молекулярно-генетические методы позволяют судить о возрасте, происхождении и генетических связях с другими флорами.

Материалы и методы. На территории государственного природного заповедника «Курильский» (о. Кунашир, Сахалинская область) в 2017 г. в рамках научно-исследовательской программы заповедника по изучению состоянию популяций редких видов растений на территории заповедника и его охранных зон было проведено обследование популяций *R. brachycarpum* (оценка состояния популяции; морфологическое описание найденных растений; сравнение параметров с описанными формами, произрастающими в Японии, на о. Итуруп и в Сихотэ-Алинском заповеднике). Из исследуемых популяций были взяты фрагменты вегетативных частей растений для молекулярных исследований с целью уточнения их таксономического статуса. В анализ также были включены гербарные образцы, хранящиеся в гербариях (МНА, MW, SAPS).

Для молекулярно-филогенетического анализа нами были определены ядерные последовательности межгенного участка (ITS1-5,8S-ITS2) транскрибируемого рибосомного оперона, так как уровень его эволюционной изменчивости попадает в рамки, подходящие для идентификации таксонов и установления родственных отношений на уровне родов и видов (Baldwin et al., 1995; Cheng et al., 2016). Выделение ДНК, амплификация и секвенирование участка (ITS1-5,8S-ITS2) проводились согласно методике, описанной в работе Valiejo-Roman et al. (2002). Дополнительно для молекулярно-филогенетического анализа из базы данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) были взяты нуклеотидные последовательности ITS (ITS1-5.8S-ITS2) 18 видов рода *Rhododendron*, а также род *Calluna* (близкородственный таксон к роду *Rhododendron*) как внешняя группа. Выборку таксонов для молекулярно-филогенетического анализа осуществляли, опираясь на работу (Kutsev, Karakulov, 2011). Все ITS последовательности анализируемых видов выравнивались в программе MUSCLE (Edgar, 2004). Просмотр результатов выравнивания нуклеотидных последовательностей и последующая ручная доработка выполнялась в программе BioEdit version 5.0.9. (Hall, 1999). Набор из 28 выровненных нуклеотидных последовательностей ITS (ITS1-5.8S-ITS2) яд-рДНК содержит 732 позиции, из которых 427 – консервативные 166 – парсимонно-информативные и 139 – парсимонно-неинформативные. Филогенетические деревья были построены по последовательностям ITS двумя методами – методом Mr. Bayes 3.1 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003) и методом максимальной экономии PAUP* 4.0b8 (Swofford, 2003). По-

лученные топологии деревьев не идентичны, но конгруэнтны в основных узлах. В статье мы приводим молекулярно-филогенетическое дерево, построенное методом Mr. Bayes 3.1 (рис.1).

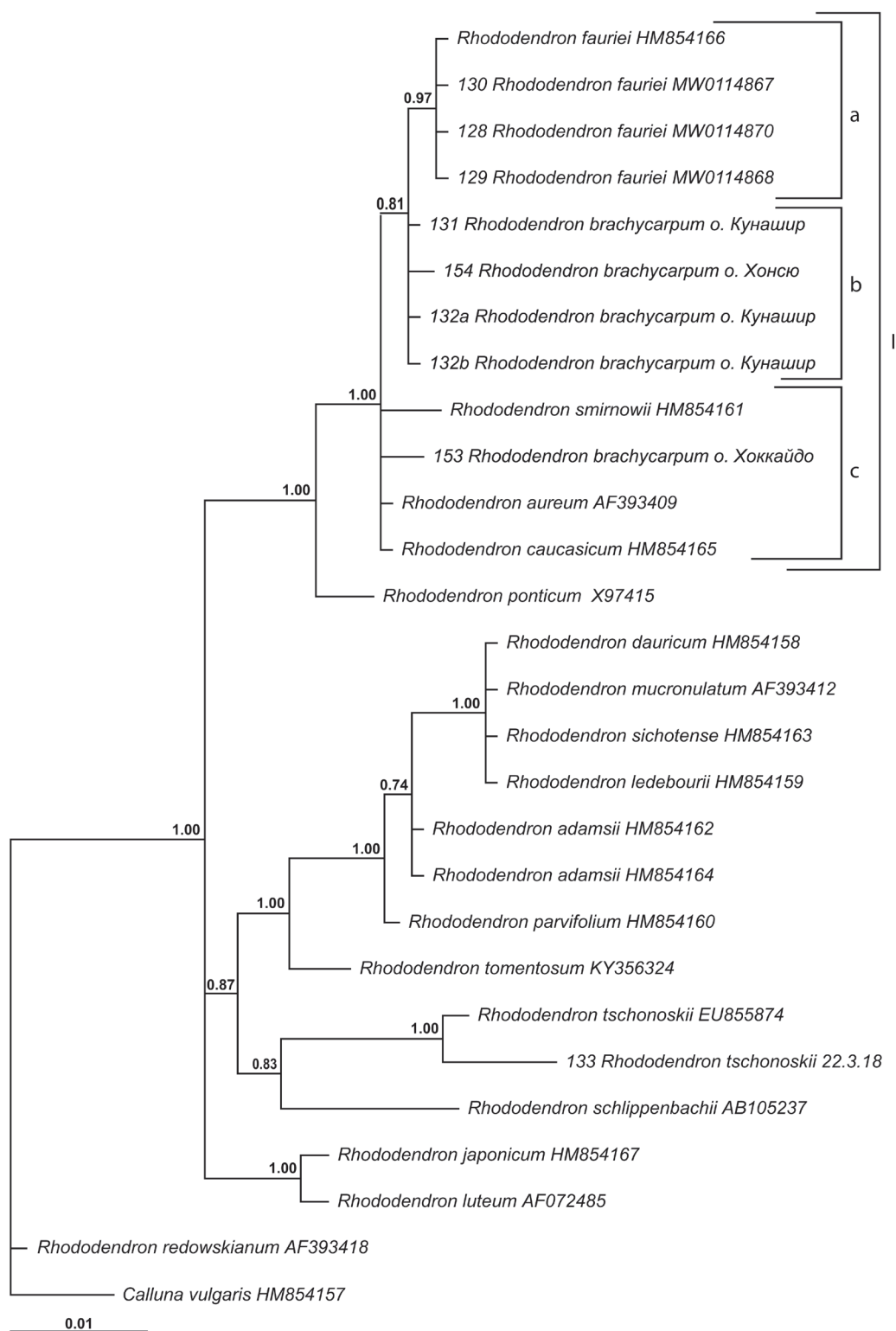


Рис. 1. Молекулярно-филогенетическое дерево, полученное по результатам анализа нуклеотидных последовательностей участка ITS (ITS1-5.8S- ITS2) яд-рДНК с помощью метода Mr. Bayes 3.1 на основании 20000000 деревьев. Числа около узлов представляют значения апостериорной вероятности. Узлы с поддержкой менее 0,50 не показаны.

Результаты и обсуждения. Местонахождения *R. brachycarpum* на территории заповедника «Курильский» вокруг оз. Горячее, в кальдере вулкана Головнина, на которые указывали М. Т. Мазуренко (1980), Л. М. Алексеева (1983) и В. М. Урусов (2000), не были подтверждены. На острове Кунашир нами было найдено два места произрастания *R. brachycarpum*. В верховье ручья Рикорда на высоте 230 м над ур. м. в нижней части склона ЮВ экспозиции был обнаружен 1 куст *R. brachycarpum*. Он находился на открытом пространстве, окружённый низкорослым бамбучком (*Sasa* sp.) с примесью лугового разнотравья, с редкими одиночными деревьями (*Betula ermanii* Cham., *Picea izeoensis* (Sibold et Zuss.) Carr.) и кустарником (*Hydrangea paniculata* Siebold). На момент обследования рододендрон находился в состоянии плодоношения с раскрывшимися коробочками. Листья кожистые, сверху темно-зелёные, снизу с бело-рыжеватым войлоком. Повторное наблюдение за *R. brachycarpum* было проведено во время цветения. Цветки у него белые, воронковидные. Нераспустившиеся цветки имели бледно-розовый оттенок. На северном склоне горы Треугольник на высоте 420 м над уровнем моря среди разреженных кустов кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pall.) Regel.) было найдено 2 куста *R. brachycarpum* в фазе цветения. Цветки белые, листья снизу также с бело-рыжеватым войлоком.

Согласно литературным данным М. Т. Мазуренко (1980), Л. М. Алексеевой (1983), В. М. Урусова, М. Н. Чипизубовой (2000) и А. В. Галанина и др. (2004), на Курильских островах произрастает *R. brachycarpum* с розовыми цветками и опушёнными снизу листьями. На данный момент нами не был зафиксирован на острове Кунашир *R. brachycarpum* var. *roseum* Nakai, а найдены экземпляры *R. brachycarpum* с белыми цветками и с листьями, нижняя сторона которых покрыта бело-рыжеватым войлоком. Литературные данные о находках на Курильских островах *R. brachycarpum* с белыми цветками отсутствуют. На островах Хоккайдо и Хонсю *R. brachycarpum* имеет довольно широкий ареал (Nakauchi et al., 1973) и окраска его цветков в разных популяциях варьирует от белой до ярко-розовой (Ohwi, 1965). Это не исключает возможности появления на о. Кунашир белоцветковой формы *R. brachycarpum*.

Такое предположение подтверждают полученные нами результаты молекулярно-филогенетического анализа. В построенных нами филогенетических деревьях анализируемые образцы *R. brachycarpum* и *R. fauriei* из разных популяций формируют хорошо поддержанную кладу I (рис. 1). Образцы *R. brachycarpum* (131, 132а, 132б) с острова Кунашир (белые цветки и густо опушённые с нижней стороны листья) объединяются с образцом *R. brachycarpum* (154) с острова Хонсю (розовые цветки и опушенные снизу листья) в субкладу (b) клады I, при этом образцы субклады (b) имеют синапоморфные замены, которые отделяют их от других таксонов, включённых в молекулярный анализ. Образцы субклады (b) занимают сестринское положение к высоко поддержанному кластеру (а), который формируют образцы *R. fauriei* (128, 129, 130), собранные на территории Сихотэ-Алинского заповедника (белые цветки и голые листья), и образец HM854166 из базы данных GenBank. Все образцы кластера (а) имеют идентичные нуклеотидные последовательности, а наличие синапоморфных замен чётко отделяет их от образцов субклады (b) (рис. 1). Полученные предварительные данные поддерживают точку зрения исследователей А. П. Харкевич, М. Т. Мазуренко (1991), которые рассматривают *R. fauriei* и *R. brachycarpum* как самостоятельные виды. Образец *R. brachycarpum*, собранный на острове Хоккайдо, входит в кладу I, но занимает изолированное положение от образцов, входящих в кластер (а) и субкладу (b). Результаты проведённых исследований, показывают необходимость дальнейшего изучения *R. brachycarpum* и *R. fauriei* на большем числе образцов, собранных как на островах (Курилы, Хоккайдо и Хонсю), так и на материке (Приморье), а также использования большего числа молекулярных маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова М. С.* Рододендроны природной флоры СССР. – М.: Изд-во Наука, 1975. – 112 с.
Алексеева Л. М. Флора острова Кунашир (сосудистые растения). – Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1983. – 79 с.
Баркалов В. Ю. Флора Курильских островов. – Владивосток: Изд-во Дальнаука, 2009. – 125 с.
Баркалов В. Ю., Еременко Н. А. Флора природного заповедника «Курильский» и заказника «Малые Курилы» (Сахалинская область). – Владивосток: Изд-во Дальнаука, 2003. – 101 с.
Воробьёв Д. П. Дикорастущие деревья и кустарники Дальнего Востока. – М.: Изд-во Наука, 1968. – 277 с.

- Воробьёв Д. П., Ворошилов В. Н., Гурзенуков Н. Н., Доронина Ю. А., Егорова Е. М., Нечаева Т. И., Пробатова Н. С., Толмачёв А. И., Черняева А. М.** Определитель высших растений Сахалина и Курильских островов. – Л.: Изд-во Наука, 1974. – 372 с.
- Ворошилов В. Н.** Определитель растений Советского Дальнего Востока. – М.: Изд-во Наука, 1982. – 460 с.
- Ворошилов В. Н.** Флора советского Дальнего Востока. – М.: Изд-во Наука, 1966. – С. 331–332.
- Галанин А. В., Баркалов В. Ю., Беликович А. В., Верхолат В. П., Галанина И. А. и др.** Флора Сихотэ-Алинского заповедника: сосудистые растения. – Владивосток: Изд-во БСИ ДВО РАН, 2004. – 300 с.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы)** / гл. ред. Ю. П. Трутнев и др.; Сост. Р. В. Камелин и др. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
- Красная книга Сахалинской области: Растения** / Отв. редактор В. М. Еремин. – Южно-Сахалинск: Сахалинское книжное издательство, 2005. – 347 с.
- Красная книга Сахалинской области: Растения и грибы** / Отв. редакторы В. М. Еремин, А. А. Таран. – Кемерово, 2019. – 351 с.
- Мазуренко М. Т.** Рододендроны Дальнего Востока, структура и морфогенез. – М.: Наука, 1980. – 232 с.
- Урусов В. М., Чипизубова М. Н.** Растительность Курил: вопросы динамики и происхождения. – Владивосток: Изд-во ТИГ ДВО РАН, Научный совет «Комплексные проблемы охраны окружающей среды и рационального использования природных ресурсов», 2000. – 303 с.
- Харкевич С. С., Качура Н. Н.** Редкие виды растений Советского Дальнего Востока и их охрана. – М.: Наука, 1981. – 185 с.
- Хохряков А. П., Мазуренко М. Т.** Вересковые – Ericaceae Juss. // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. – СПб.: Наука, 1991. – Т. 5. – С. 119–166.
- Baldwin B. G., Sanderson M. J., Porter J. M., Wojciechowski M. F., Campbell C. S., Donoghue M. J.** The ITS region of nuclear ribosomal DNA – a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny // *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1995. – Vol. 82. – P. 247–277.
- Cheng T., Xu C., Lei L., Li C., Zhang Y., Zhou S.** Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity phylogeny // *Molecular Ecology Resources*, 2016. – Vol. 16. – P. 138–149.
- Edgar R. C.** MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // *Nucleic Acids Research*, 2004. – Vol. 32. – P. 1792–1797.
- Hall T. A.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp.*, 1999. – Ser. 41. – P. 95–98.
- Kutsev M. G., Karakulov A. V.** Reconstruction of phylogeny of the genus *Rhododendron* L. from Russia based on the molecular genetic data // *Forestry Ideas*, 2011. – Vol. 17, № 1(41). – P. 62–65.
- Nakauchi T., Saito S., Hirakimoto T.** A study on a indigenous rhododendron (*Rhododendron fauriei* Franch.) in Hokkaido // *Journ. Jap. Bot.*, 1973. – Vol. 62, № 8. – P. 225–243.
- Ohwi J.** Flora of Japan: D.C.: Smithsonian Institution. – Washington, 1965. – 1085 s.
- Ronquist F. R., Huelsenbeck J. P.** MrBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*, 2003. – № 19. – P. 1572–1574.
- Swofford D. L.** PAUP*: version 4.0. Sunderland, Massachusetts: Inc. Publishers, Sinauer Associates, 2003.
- Valiejo-Roman C. M., Terentjeva E. I., Samigullin T. H., Pimenov M. G.** Relationships among genera in Saniculoideae (Umbelliferae) and connected taxa inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // *Taxon*, 2002. – Vol. 51. – P. 91–101.
- Yamazaki T.** Ericaceae. In: *Wild Flowers of Japan. Woody plants II: Heibonsha*. Eds. Y. L. Satake, H. Hara, S. Watari., – Tokyo, 1989. – P. 122–156. [In Japanese].