

Научная статья

УДК 575.86

DOI 10.24419/LNI.2304-3083.2023.2.10

Данные по изменчивости региона ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*

Светлана Олеговна Медведева¹

Ольга Евгеньевна Черепанова²

кандидат биологических наук

Ольга Владимировна Толкач³

доктор сельскохозяйственных наук

Василий Иванович Пономарев⁴

доктор биологических наук

Галина Валентиновна Малосиева⁵

Аннотация. Изложены предварительные результаты анализа генетического полиморфизма региона ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК *Betula turkestanica* Litv., *B. tianschanica* Rupr., *B. procurva* Litv., выполненного с целью прояснения таксономического статуса, филогенетических взаимоотношений и происхождения этих видов берез. Ареалы *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica* охватывают территорию Центральной Азии (Памиро-Алтай), при этом *B. procurva* встречается изолировано от основного ареала в горной части Урала (зона бореальных лесов и Зауральская лесостепь). Эти виды берез обладают морфологическими признаками *B. microphylla* Bunge и *B. pendula* Roth, но имеют и отличительные особенности морфологии. Показан уровень дифференциации и распределение генетического разнообразия между группами гаплотипов, а также приводится генетическая сеть, демонстрирующая взаимоотношения между исследованными образцами. Основываясь на результатах генетического анализа, высказано предположение о происхождении и филогенетических взаимоотношениях *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica*. Полученная сеть гаплотипов подтверждает гипотезу о возможном общем предке *B. procurva*, *B. pendula* из секции *Betula* (белые березы) и *B. nana* из секции *Apterocaryon* (карликовые березы). Сделан вывод об информативности региона ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК для дифференциации исследованных видов берез на территории Кыргызстана. При этом наибольшее гаплотипическое разнообразие характерно для образцов *B. procurva* с дивергентным положением образцов Курганской группы, что свидетельствует о длительном существовании этой дизъюнкции.

Ключевые слова: *Betula*, ITS-маркер, ядерная рибосомальная ДНК, филогенетический анализ, таксономия

Для цитирования: Медведева С.О., Черепанова О.Е., Толкач О.В., Пономарев В.И., Малосиева Г.В. Данные по изменчивости региона ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*. – Текст: электронный // Лесохозяйственная информация. 2023. № 2. С. 127–135. DOI 10.24419/LNI.2304-3083.2023.2.10.

¹ Ботанический сад УрО РАН, младший научный сотрудник (Российская Федерация, Екатеринбург), so.medvedeva@gmail.com

² Ботанический сад УрО РАН, старший научный сотрудник (Российская Федерация, Екатеринбург), botgarden.olga@gmail.com

³ Ботанический сад УрО РАН, ведущий научный сотрудник (Российская Федерация, Екатеринбург), tolkach_o_v@mail.ru

⁴ Ботанический сад УрО РАН, заместитель директора по науке (Российская Федерация, Екатеринбург), v_i_ponomarev@mail.ru

⁵ Ботанический сад им. Э. Гареева НАН Кыргызской Республики, старший научный сотрудник (Кыргызская Республика, Бишкек), gareev100@mail.ru

Original article

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.2.10

Data on Variability of Nuclear Ribosomal DNA ITS 1–2 Markers of *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*

Svetlana O. Medvedeva¹

Olga E. Cherepanova²

Candidate of Biological Sciences

Olga V. Tolkach³

Doctor of Agricultural Sciences

Vasily I. Ponomarev⁴

Doctor of Biological Sciences

Galina V. Malosieva⁵

Abstract. The article includes preliminary results of nuclear ribosomal DNA ITS 1–2 region analysis of *Betula turkestanica* Litv., *Betula tianschanica* Rupr., *Betula procurva* Litv. implemented for clarification of taxonomic status, phylogenetic relationship and origin of these birch species. The range of *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica*, is confined to the mountain system in southeast Central Asia (Pamir-Altai). *B. procurva* has a disjunctive range and is also found isolated from the main range in the mountainous part of the Urals (boreal forests zone and the Trans-Ural forest-steppe). These birch species have morphological features of *B. microphylla* Bunge and *B. pendula* Roth, however they also possess distinctive morphological traits. The paper shows the level of differentiation and the distribution of genetic variability between groups of haplotypes, and also provides a genetic network which demonstrates the relationships between the studied samples. Based on the results of genetic analysis, the origin and phylogenetic relationships of *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica* are suggested. The resulting haplotype network confirms the hypothesis of a possible common ancestor of *B. procurva*, *B. pendula* from the section *Betula* (white birches) and *B. nana* from the section *Apterocaryon* (dwarf birches). A conclusion is made about the informativity of the ITS 1–2 region of nuclear ribosomal DNA for the differentiation of the studied birch species on the territory of Kyrgyzstan. At the same time, it is emphasized that the highest haplotype diversity is typical for *B. procurva* specimens with divergent position of the sample from the Kurgan region, which indicates the long-term existence of this disjunction.

Key words: *Betula*, ITS-marker, nuclear ribosomal DNA, phylogenetic analyses, taxonomy.

For citation: Medvedeva S., Cherepanova O., Tolkach O., Ponomarev V., Malosieva G. Data on Variability of Nuclear Ribosomal DNA ITS 1–2 Markers of *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*. – Text : electronic // Forestry information. 2023. № 2. P. 127–135. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.2.10.

¹ Botanic Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Junior Researcher (Yekaterinburg, Russian Federation), so.medvedeva@gmail.com

² Botanic Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Senior Researcher (Yekaterinburg, Russian Federation), botgarden.olga@gmail.com

³ Botanic Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Leading Researcher (Yekaterinburg, Russian Federation), tolkach_o_v@mail.ru

⁴ Botanic Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director Science (Yekaterinburg, Russian Federation), v_i_ponomarev@mail.ru

⁵ E. Gareev Botanical Garden of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Senior Researcher (Kyrgyz Republic, Bishkek), gareev100@mail.ru

Введение

Березы (*Betula* L.) – листопадные деревья и кустарники Северного полушария, встречающиеся в диапазоне широт от субтропиков до Арктики и обладающие высокой экологической пластичностью. Они участвуют в формировании экосистем болот, высокогорий, тундры и различных типов бореальных лесов. Некоторые представители рода *Betula* являются важнейшими лесообразующими видами. Быстрорастущие и легко адаптирующиеся к изменению климата виды берез имеют большой потенциал использования в лесовосстановительных проектах [1].

Род *Betula* считается одним из самых таксономически сложных родов среди покрытосеменных [2]. Виды, относящиеся к этому роду, характеризуются высокой изменчивостью морфологических признаков, обусловленной интенсивной и широко распространённой гибридизацией, что затрудняет филогенетические исследования и идентификацию видов. В результате этого не существует единого мнения о видовом составе берез. По оценке Ashburner and McAllister [3], р. *Betula* включает около 65 видов берез, по данным других авторов их значительно больше – около 120 [4, 5].

Согласно последней классификации [3] р. *Betula* подразделяется на 8 секций (*Acuminatae*, *Asperae*, *Lentae*, *Apterocaryon*, *Betula*, *Costatae*, *Dahuricae* и *Nipponobetula*). Наибольшим разнообразием видов, подвидов и форм на территории Российской Федерации обладает секция *Betula* (белые березы), прогрессивная группа в филогенетическом отношении. При этом таксономический статус, филогенетические взаимоотношения и происхождение многих представителей данной секции (*Betula turkestanica* Litv., *B. tianschanica* Rupr., *B. procurva* Litv, *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, *B. carpatica* Waldst. & Kit. ex Willd., *B. obscura* Kotula ex Fiek, *B. litwinowii* Doluch., *B. karagandensis* V.N. Vassil., *B. tortuosa* Ledeb. и др.) не определены и требуют уточнения с помощью современных молекулярно-генетических методов. Уточнение филогенетических взаимоотношений различных видов

берез может быть выполнено с использованием таких генетических маркеров, как межгенные спейсеры хлоропластной ДНК (регионы *TrnL-F*, *MatK1-2*, *TrnS-G* и др.), ядерной рибосомальной ДНК (регион ITS 1–2), а также микросателлитные последовательности ядерной ДНК [2, 6–11]. При этом следует отметить, что на территории Российской Федерации до сих пор не было проведено комплексных исследований генетического полиморфизма и филогеографии популяции берез с использованием генетических маркеров. Существующим работам по генетическому разнообразию берез свойственна узкая региональность и фрагментарность, что затрудняет сопоставимость и интерпретацию результатов, не позволяя выявить и обобщить филогеографические закономерности в пределах всего ареала видов.

Важным вопросом систематики рода *Betula* является таксономическое положение некоторых видов берез, принадлежащих секции *Betula*, таких как *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica*, ареалы которых охватывают территорию Центральной Азии (Памиро-Алтай); при этом *B. procurva* растет изолировано и в горной части Урала (зона бореальных лесов и Зауральская лесостепь). Эти виды берез обладают морфологическими признаками *B. microphylla* Bunge и *B. pendula* Roth, но имеют и отличительные особенности морфологии (беловатая или желто-коричневая шелушащаяся кора, средняя высота дерева, длина и форма сережек, морфология плодов) [3, 12, 13]. В монографии Ashburner и McAllister [3] *B. procurva* и *B. turkestanica* считаются синонимами *B. tianschanica*. Однако другие авторы полагают, что эти виды самостоятельные [13, 14]. Для прояснения таксономического статуса вышеуказанных видов берез мы начали работу по изучению генетического разнообразия и генетической структуры популяций *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianschanica* на основе анализа нуклеотидных последовательностей ядерной рибосомальной ДНК (регион ITS 1–2).

Цель исследования – получение предварительных данных о филогенетическом положении и происхождении *B. procurva*, *B. turkestanica*,

B. tianschanica, а также оценка информативности региона ITS 1–2 ядерной рДНК в качестве молекулярного маркера для определения таксономического статуса изучаемых видов берез.

Материалы и методы исследования

Сравнительный анализ полиморфизма межгенных спейсеров ядерной рибосомальной ДНК (регион ITS 1–2) проведен на материале, полученном как из высушенных (гербарных), так и из свежих листьев берез. Перечень, количество и географическое положение образцов, использованных в работе, представлены в таблице. Были проанализированы образцы листьев берез *B. turkestanica*, *B. procurva*, *B. tianshanica*, собранные в естественных местообитаниях (Кыргызстан, близ реки Гульча), в Ботаническом саду им. Е.З. Гареева НАН (Кыргызстан, Бишкек), а также гербарные образцы *Betula nana* L. из Челябинской обл. и *B. procurva* из Курганской обл. *B. nana* не входит в секцию *Betula* и является представителем карликовых берез (секция *Apterocaryon*). Однако образцы *B. nana* были использованы в нашем исследовании для прояснения филогенетических закономерностей, в связи с предполагаемым родством этого вида с *B. procurva* [10,15]. Для построения генетической сети и филогенетического анализа дополнительно

включены последовательности региона ITS 1–2 из Генбанка для березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) и березы повислой (*B. pendula*) – предположительных родственных видов *B. turkestanica*, *B. procurva*, *B. tianshanica*. Образец ольхи серой (*Alnus incana* (L.) Moench) использовали в качестве внешней группы (см. таблицу)¹.

Тотальная ДНК была выделена с использованием СТАВ-метода [16]. Для анализа генетического разнообразия использовали межгенные спейсеры ядерной рибосомальной ДНК (регион ITS 1–2). Амплификацию регионов осуществляли с использованием универсальных праймеров, реакционных условий и температурных режимов, рекомендованных для этих участков [17]. Последующее секвенирование проводили по методу Сэнгера при помощи BrilliantDye v. 3.1 kit (Gene Analyzers 3130; NimaGen, Netherlands). Редактирование и выравнивание полученных последовательностей выполнялось вручную в программах BioEdit7.0 [18] и Mega6 [19].

Для проведения статистического анализа единичные образцы были объединены в группы по географическому признаку (группа *B. procurva* из Кыргызстана, Курганская группа *B. procurva*, группа *B. tianschanica* и *B. turkestanica*). Уровень дифференциации и распределение генетического полиморфизма между группами гаплотипов (анализ молекулярной дисперсии – AMOVA) определяли с помощью пакета программ DNASP 6.0

ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ И ГАПЛОТИПЫ ОБРАЗЦОВ

№	Вид	ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ОБРАЗЦОВ / РЕФ. № ГЕНБАНКА	Кол-во ОБРАЗЦОВ	ГАПЛОТИПЫ
1	<i>B. turkestanica</i>	Кыргызстан, с. Гульча 40°18'49"/73°26'39	1	Г3
2	<i>B. procurva</i>	Кыргызстан, с. Гульча 40°18'49"/73°26'39	1	Г7
3	<i>B. procurva</i>	Ботанический сад им. Е.З. Гареева НАН, Кыргызстан, Бишкек	1	Г6
4	<i>B. procurva</i>	Российская Федерация, Курганская область 55°27'/65°20'	2	Г5
5	<i>B. nana</i>	Российская Федерация, Челябинская область 55°09'/61°24'	2	Г4
6	<i>B. tianschanica</i>	Кыргызстан, с. Гульча 40°18'49"/73°26'39	1	Г8
7	<i>B. pubescens</i>	Генбанк реф. № AY761130, Черногория	1	Г2
8	<i>B. pendula</i>	Генбанк реф. № AY761127, Финляндия	1	Г1
9	<i>A. incana</i>	Генбанк реф. № AJ251665, Европа	1	Внешняя группа

¹ База данных NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (по состоянию на 15 сентября 2021).

[20]. Значения F_{ST} были получены для оценки молекулярной дивергенции между отдельными группами. Филогенетические отношения между гаплотипами реконструированы с помощью NETWORK ver. 4.6.1.2 (метод Reduced Median, RM) [21].

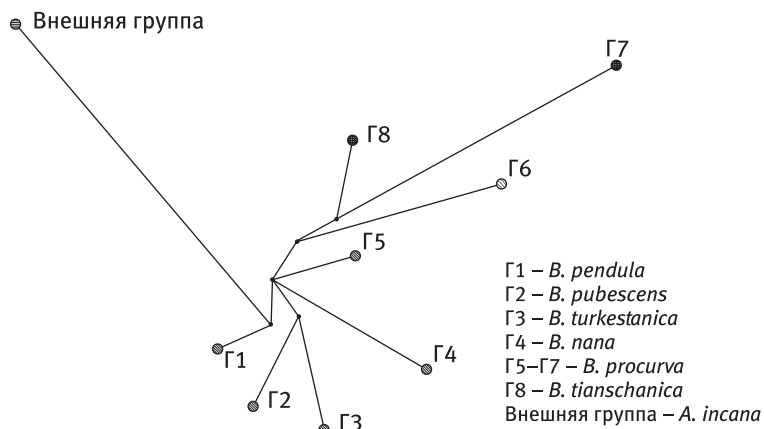
Результаты и обсуждение

В результате секвенирования межгенного спейсера (ITS 1–2) ядерной рДНК различных образцов берез были получены последовательности длиной около 600 п.н. После выравнивания их с последовательностями *B. pendula* и *B. pubescens*, загруженными из Генбанка, были идентифицированы 9 гаплотипов, включая внешнюю группу *A. incana*, отношения между которыми были визуализированы в виде сети (рисунок).

Общее число проанализированных сайтов составило 570 (включая гэпы), количество переменных сайтов – 69 (включая гэпы), разнообразие гаплотипов – 0,949, общее количество мутаций – 73. Все виды характеризовались отдельными гаплотипами, при этом у *B. procurva* было выявлено 3 гаплотипа (см. таблицу).

Нуклеотидные последовательности региона ITS 1–2 ядерной рДНК исследованных образцов оказались достаточно информативными для изучения филогенетических отношений, а также определения филогенетического положения *B. procurva*, *B. tianschanica*, *B. turkestanica* внутри секции *Betula*. Все изученные образцы имели уникальные наборы мутаций в последовательностях ITS 1–2, образуя различные гаплотипы (см. таблицу и рисунок).

Значения генетических дистанций (F_{ST}) между географическими группами образцов (группа *B. procurva* из Кыргызстана, Курганская группа *B. procurva*, группа *B. tianschanica* и *B. turkestanica*) варьировали от 0,067 до 0,600. Наибольший показатель генетической дифференциации ($F_{ST} = 0,600$) был отмечен между образцами *B. tianschanica*, *B. turkestanica* из Кыргызстана и *B. procurva* из Курганской обл. Анализ



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СЕТЬ, ДЕМОНИСТРИРУЮЩАЯ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ИССЛЕДУЕМЫМИ ОБРАЗЦАМИ ВИДОВ РОДА *BETULA*, КОТОРАЯ ПОСТРОЕНА НА ОСНОВЕ МАТРИЦЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДИСТАНЦИЙ НЕЯ ДЛЯ СЕКВИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ЯДЕРНОЙ РИБОСОМАЛЬНОЙ ДНК (РЕГИОН ITS 1–2)*

* Длина отрезков сети соответствует количеству мутационных шагов.

выявил низкую генетическую дифференциацию между образцами *B. procurva* из различных географических локализаций, что свидетельствует об их гомогенности. Индекс фиксации F_{ST} между *B. procurva* из Курганской обл. и *B. procurva* из Кыргызстана составил 0,206. Низкие значения генетической дифференциации ($F_{ST} = 0,067$) между группой *B. procurva* из Кыргызстана и группой *B. turkestanica*, *B. tianschanica* могут свидетельствовать об относительно недавней и быстрой дивергенции этих видов от общего предка, а также о высокой степени межвидовой гибридизации.

Пространственная ориентация ITS 1–2 гаплотипов построена, принимая во внимание делеции как пятый тип нуклеотида. Полученная сеть гаплотипов подтверждает гипотезу о возможном общем предке *B. procurva*, *B. pendula* и *B. nana*. На это указывает отхождение эволюционных линий гаплотипов *B. procurva*, *B. nana*, *B. pendula* от одного узла (см. рисунок). Пространственное распределение ITS 1–2 гаплотипов *B. procurva* согласуется с ранее выявленной географической структурой хлоропластных гаплотипов [22]. При этом в отличие от вышеуказанного исследования для региона ITS 1–2 не было выявлено общности гаплотипов.

Полученная генетическая сеть указывает на раннее расхождение и длительную изоляцию курганских и кыргызских образцов *B. procurva*.

Заключение

Проведенное молекулярно-генетическое исследование, основанное на маркерах ITS 1–2 ядерной рДНК, позволило сделать вывод об общности происхождения *B. procurva*, *B. turkestanica*, *B. tianshanica*. Регион ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК оказался достаточно информативным для дифференциации этих близкородственных видов берез на территории Кыргызстана. Наибольшее

гаплотипическое разнообразие характерно для образцов *B. procurva* с дивергентным положением образцов Курганской группы, что свидетельствует о длительном существовании этой дизъюнкции. Полученная сеть гаплотипов подтверждает гипотезу о возможном общем предке *B. procurva*, *B. pendula* из секции *Betula* (белые березы) и *B. nana* из секции *Apterocaryon* (карликовые березы). Для подтверждения вышеизложенных гипотез необходимо провести анализ большего количества образцов с использованием дополнительных молекулярных маркеров для более полного изучения филогенетических взаимоотношений *B. procurva*, *B. turkestanica* и *B. tianshanica*.

Список источников

1. Dubois, H. Potential of Birch (*Betula pendula* Roth and *B. pubescens* Ehrh.) for Forestry and Forest-Based Industry Sector within the Changing Climatic and Socio-Economic Context of Western Europe / H. Dubois, E. Verkasalo, H. Claessens // *Forests*. – 2020. – № 11. – P. 336. DOI: 10.3390/f11030336.
2. Phylogenetic relationships of *Betula* species (Betulaceae) based on nuclear ADH and chloroplast matK sequences / P. Järvinen, A.E. Palmé, L.O. Morales, M. Länneppää, M. Keinänen, T. Sopanen, M. Lascoux // *American Journal of Botany*. – 2004. – № 91. – P. 1834–1845. Doi: 10.3732/ajb.91.11.1834.
3. Ashburner, K. The Genus *Betula*: A Taxonomic Revision of Birches / K. Ashburner, H.A. McAllister. – London : Kew Publishing, 2016.
4. Коропачинский, И.Ю. Естественная гибридизация и проблемы систематики берез Северной Азии / И.Ю. Коропачинский // *Сибирский экологический журн.* – 2013. – Т. 20. – № 4. – С. 459–479. DOI: 10.1134/S1995425513040045.
5. Ветчинникова, Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты) / Л.В. Ветчинникова. – Москва : Наука, 2004. – 183 с.
6. Li, J.H. Phylogenetics of *Betula* (Betulaceae) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA. – Text : electronic / J.H. Li, S. Shoup, Z.D. Chen // *Rhodora*. – 2005. – № 107. – P. 69–86. – Режим доступа: <https://www.jstor.org/stable/23314506>.
7. Nagamitsu, T. Endemic dwarf birch *Betula apoiensis* (Betulaceae) is a hybrid that originated from *Betula ermanii* and *Betula ovalifolia* / T. Nagamitsu, T. Kawahara, A. Kanazashi // *Plant Species Biology*. – 2006. – № 21. – P. 19–29. DOI: 10.1111/j.1442-1984.2006.00147.x.
8. Molecular phylogeny and genome size evolution of the genus *Betula* (Betulaceae) / N. Wang, H.A. McAllister, P.R. Bartlett, R.J.A. Buggs // *Ann Bot-London*. – 2016. – № 117. – P. 1023–1035. DOI: 10.1093/aob/mcw048.
9. Chloroplast DNA variation of *Betula humilis* Schrk. in Poland and Belarus / K. Jadwiszczak, A. Banaszek, E. Jabłonska, O.V. Sozinov // *Tree Genetics and Genomes*. – 2012. – № 8. – P. 1017–1030. DOI: 10.1007/s11295-012-0482-y.
10. Extensive sharing of chloroplast haplotypes among European birches indicates hybridization among *Betula pendula*, *B. pubescens* and *B. nana* / A.E. Palmé, Q. Su, S. Palsson, M. Lascoux // *Molecular Ecology*. – 2004. – № 13. – P. 167–178. – DOI: 10.1046/j.1365-294x.2003.02034.x.
11. Multispecies genetic structure and hybridization in the *Betula* genus across Eurasia / Y. Tsuda, V. Semerikov, F. Sebastiani, G.G. Vendramin, M. Lascoux // *Molecular Ecology*. – 2017. – № 26. – P. 589–605. DOI: 10.1111/mec.13885
12. Комаров, В.И. Флора СССР / В.И. Комаров. – Москва : изд-во Академии наук СССР, 1936.
13. Васильев, В.Н. Березы Урала / В.Н. Васильев // *Тр. Ин-та экологии растений и животных*. – Вып. 69. – Свердловск, 1969. – С. 59–140.
14. Skvortsov, A.K. A new system of the genus *Betula* L. – the birch / A.K. Skvortsov // *Bulletin of Moscow Society of Naturalist*. – 2002. – № 107. – P. 73–76.
15. Vaarama, A. On the taxonomy, biology and origin of *Betula tortuosa* Ledeb. / A. Vaarama, T. Valanne // *Reports of the Kevo Subarctic Research Station*. – 1973. – № 10. – P. 70–84.
16. Doyle, J.J. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue / J.J. Doyle, and J.L. Doyle // *Focus*. – 1990. – Т. 12. – № 1. – P. 13–15.
17. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T.J. White, T. Bruns, S. Lee, T. Taylor // *PCR protocols: a guide to methods and applications*. – New York : Academic Press, 1990. – P. 315–322.
18. Hall, T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // *Nucl. Acid Symp.* – 1999. – № 41. – P. 95–98. DOI: 10.12691/ajmr-3-2-1.

19. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipksi, S. Kumar // *Molecular biology and evolution*. – 2013. – Т. 30. – № 12. – P. 2725–2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
20. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets / J. Rozas, A. Ferrer-Mata, J.C. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, S.E. Ramos-Onsins, A. Sánchez-Gracia // *Mol. Biol. Evol.* – 2017. – № 34. – P. 3299–3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248.
21. Bandelt, H.J. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies / H.J. Bandelt, P. Forster, A. Röhl // *Mol Biol Evol.* – 1999. – № 1. – P. 37–48. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036.
22. TrnL-trnF cpDNA polymorphism in some representatives of the genus *Betula* / S. Medvedeva, O. Cherepanova, O. Tolkach, V. Ponomarev, G. Malosieva // *BIOWeb of Conferences*. – 2021. – № 35. DOI: 10.1051/bioconf/20213500017.

References

1. Dubois, H. Potential of Birch (*Betula pendula* Roth and *B. pubescens* Ehrh.) for Forestry and Forest-Based Industry Sector within the Changing Climatic and Socio-Economic Context of Western Europe / H. Dubois, E. Verkasalo, H. Claessens // *Forests*. – 2020. – № 11. – P. 336. DOI: 10.3390/f11030336.
2. Phylogenetic relationships of *Betula species* (Betulaceae) based on nuclear ADH and chloroplast matK sequences / P. Jävinen, A.E. Palmé, L.O. Morales, M. Länneppää, M. Keinänen, T. Söpanen, M. Lascoux // *American Journal of Botany*. – 2004. – № 91. – P. 1834–1845. Doi: 10.3732/ajb.91.11.1834.
3. Ashburner, K. The Genus *Betula*: A Taxonomic Revision of Birches / K. Ashburner, H.A. McAllister. – London : Kew Publishing, 2016.
4. Koropachinskij, I.Yu. Estestvennaya gibridizaciya i problemy sistematiki berez Severnoj Azii / I.Yu. Koropachinskij // *Sibirskij ekologičeskij zhurn.* – 2013. – Т. 20. – № 4. – S. 459–479. DOI: 10.1134/S1995425513040045
5. Vetchinnikova, L.V. Bereza: voprosy izmenchivosti (morfo-fiziologičeskie i biohimičeskie aspekty) / L.V. Vetchinnikova. – Moskva : Nauka, 2004. – 183 s.
6. Li, J.H. Phylogenetics of *Betula* (Betulaceae) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA. – Text : electronic / J.H. Li, S. Shoup, Z.D. Chen // *Rhodora*. – 2005. – № 107. – P. 69–86. – Rezhim dostupa: <https://www.jstor.org/stable/23314506>
7. Nagamitsu, T. Endemic dwarf birch *Betula apoiensis* (Betulaceae) is a hybrid that originated from *Betula ermanii* and *Betula ovalifolia* / T. Nagamitsu, T. Kawahara, A. Kanazashi // *Plant Species Biology*. – 2006. – № 21. – P. 19–29. DOI: 10.1111/j.1442-1984.2006.00147.x
8. Molecular phylogeny and genome size evolution of the genus *Betula* (Betulaceae) / N. Wang, H.A. McAllister, P.R. Bartlett, R.J.A. Buggs // *Ann Bot-London*. – 2016. – № 117. – P. 1023–1035. DOI: 10.1093/aob/mcw048
9. Chloroplast DNA variation of *Betula humilis* Schrk. in Poland and Belarus / K. Jadwiszczak, A. Banaszek, E. Jabłńska, O.V. Sozinov // *Tree Genetics and Genomes*. – 2012. – № 8. – P. 1017–1030. DOI: 10.1007/s11295-012-0482-y
10. Extensive sharing of chloroplast haplotypes among European birches indicates hybridization among *Betula pendula*, *B. pubescens* and *B. nana* / A.E. Palmé, Q. Su, S. Palsson, M. Lascoux // *Molecular Ecology*. – 2004. – № 13. – P. 167–178. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2003.02034.x.
11. Multispecies genetic structure and hybridization in the *Betula* genus across Eurasia / Y. Tsuda, V. Semerikov, F. Sebastiani, G.G. Vendramin, M. Lascoux // *Molecular Ecology*. – 2017. – № 26. – P. 589–605. DOI: 10.1111/mec.13885
12. Komarov, V.I. Flora SSSR / V.I. Komarov. – Moskva : izd-vo Akademii nauk SSSR, 1936.
13. Vasil'ev, V.N. Berezy Urala / V.N. Vasil'ev // *Tr. In-ta ekologii rastenij i zhivotnyh.* – Vyp. 69. – Sverdlovsk, 1969. – S. 59–140.

14. Skvortsov, A.K. A new system of the genus *Betula* L. – the birch / A.K. Skvortsov // Bulletin of Moscow Society of Naturalist. – 2002. – № 107. – P. 73–76.
15. Vaarama, A. On the taxonomy, biology and origin of *Betula tortuosa* Ledeb. / A. Vaarama, T. Valanne // Reports of the Kevo Subarctic Research Station. – 1973. – № 10. – P. 70–84.
16. Doyle, J.J. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue / J.J. Doyle, and J.L. Doyle // Focus. – 1990. – T. 12. – № 1. – P. 13–15.
17. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T.J. White, T. Bruns, S. Lee, T. Taylor // PCR protocols: a guide to methods and applications. – New York : Academic Press, 1990. – P. 315–322.
18. Hall, T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // Nucl. Acid Symp. – 1999. – № 41. – P. 95–98. DOI: 10.12691/ajmr-3-2-1.
19. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipiski, S. Kumar // Molecular biology and evolution. – 2013. – T. 30. – № 12. – P. 2725–2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
20. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets / J. Rozas, A. Ferrer-Mata, J.C. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, S.E. Ramos-Onsins, A. Sánchez-Gracia // Mol. Biol. Evol. – 2017. – № 34. – P. 3299–3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248
21. Bandelt, H.J. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies / H.J. Bandelt, P. Forster, A. Röhl // Mol Biol Evol. – 1999. – № 1. – P. 37–48. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036.
22. TrnL-trnF cpDNA polymorphism in some representatives of the genus *Betula* / S. Medvedeva, O. Cherepanova, O. Tolkach, V. Ponomarev, G. Malosieva // BIO Web of Conferences. – 2021. – № 35. DOI:10.1051/bioconf/20213500017.