

## ФИЛОГЕОГРАФИЯ ВИДОВ ДУБА В КРЫМУ ВЫЯВЛЯЕТ ПЛЕЙСТОЦЕНОВЫЕ РЕФУГИУМЫ И ПУТИ МИГРАЦИЙ<sup>1</sup>

© 2023 г. С. А. Семерикова<sup>а</sup>, \*, С. М. Подергина<sup>а</sup>, А. Н. Ташев<sup>б</sup>, В. Л. Семериков<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, Россия 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

<sup>б</sup>Лесотехнический университет, Болгария 1797 София, бульвар Климент Охридски, 10

\*e-mail: s.a.semerikova@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 09.09.2022 г.

После доработки 06.01.2023 г.

Принята к публикации 15.01.2023 г.

Изменчивость хлоропластной ДНК была изучена у 872 деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), дуба скального (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.) и дуба пушистого (*Q. pubescens* Willd.) на Крымском полуострове, на Западном Кавказе и в Балканском регионе с целью исследования филогеографии и взаимодействия данных видов в Причерноморье. Секвенированием пяти фрагментов общей длиной более 10 000 пар нуклеотидов выявлено 12 гаплотипов хлоропластной ДНК. Для типирования гаплотипов в изученных выборках использовали хлоропластные микросателлиты (cpSSR), секвенирование и рестрикционный анализ. Установлена принадлежность гаплотипов к нескольким дивергентным филогенетическим линиям. Изученные виды слабо различаются между собой по составу гаплотипов при выраженной географической структуре изменчивости, что демонстрирует некоторый уровень генетического потока между ними в смешанных популяциях. Гаплотипы Балканского региона близкородственны гаплотипам изученных ранее популяций из Восточной Европы и западной части Русской равнины и не встречаются в Крыму и на Кавказе. На Крымском п-ове выделяются две географические группы популяций, резко различающиеся по составу гаплотипов. Показано отличие западной и центральной частей полуострова от восточной, что предполагает различное происхождение популяций дуба в Крыму в результате миграций из двух источников, чему могли содействовать периодические понижения уровня Черного моря и его опреснение, неоднократно случившиеся в плейстоцене и голоцене. Преобладание двух дивергентных гаплотипов в западной части полуострова, сходных с гаплотипами Малой Азии, свидетельствует о проникновении дуба в Крым из этого региона и наличии в горных лесных районах Крыма изолированного рефугиума во время последнего ледникового максимума. При этом на востоке горно-лесной части Восточного Крыма у дуба распространены гаплотипы, общие с Западным Кавказом. Резкая граница между областями распространения “западных” и “восточных” гаплотипов в Восточном Крыму свидетельствует об относительно недавнем времени формирования зоны вторичного контакта между местными и кавказскими популяциями дуба в результате послеледниковой колонизации.

**Ключевые слова:** филогеография, Крымский полуостров, Причерноморье, *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, хлоропластная ДНК, популяционно-генетическая структура, древние рефугиумы, миграции, пути колонизации

**DOI:** 10.31857/S0367059723030058, **EDN:** ECE1NY

Южные окраинные популяции деревьев европейских умеренных и бореальных лесов благодаря возможной адаптации к жарким и засушливым условиям являются источником генетической изменчивости, потенциально важной для выживания при глобальных климатических изменениях. Для исследования геномных основ климатических адаптаций необходима информация о биогеографии вида: происхождении популяций, их

дифференциации, миграциях и вторичных гибридных контактах. Лесная область Причерноморья является уникальным анклавом европейских лесов, содержащим большую долю биологического и генетического разнообразия [1–7]. Однако в большинстве исследований филогеографии европейских древесных растений (например, [8, 9]) юго-восточным областям, включая этот регион, было уделено недостаточное внимание. На основании генетических и палеоботанических исследований видов дуба в Европе были выделены три основных рефугиума, расположенные на полуостровах Средиземноморья [8, 9], а в последнее

<sup>1</sup> Дополнительная информация для этой статьи доступна по DOI: 10.31857/S0367059723030058 для авторизованных пользователей.

время выявлены дополнительные, расположенные севернее и восточнее [10, 11]. Однако роль Причерноморского региона в качестве месторасположения рефугиумов, их взаимодействие и возможный вклад в генетическое разнообразие и дифференциацию современных европейских популяций изучены недостаточно.

Крымский полуостров, являясь частью Причерноморского региона, находится на границе циркумбореальной и средиземноморской флористических областей [2, 12] и на перекрестке древних миграционных путей флор соседних регионов [1, 2, 13]. Лесные сообщества в Крыму распространены в горных и предгорных областях [14, 15]. Крымские горы протянулись на 180 км вдоль юго-восточного побережья тремя параллельными хребтами (грядами). Ближняя к морю Главная гряда Крымских гор (высота до 1500 м) задерживает большое количество осадков и защищает южные склоны от холода, формируя особое сочетание климатических условий как на южном, так и на северном макросклонах. Современная растительность Горного Крыма сформировалась в древности и имеет широкие биогеографические связи [1, 2, 15]. Флора Горного Крыма наиболее сходна с флорой северной части Западного Закавказья, что подтверждает правомерность выделения Крымско-Новороссийской флористической провинции [1, 12]. В меньшей степени представлен крымско-балканский и крымско-малоазиатский элементы флоры [1, 13]. Важную часть флоры Крыма составляет голарктический географический элемент [1], и крымские леса в разные эпохи могли иметь флористическую связь с лесами более северных регионов. Структура лесной растительности достаточно сложная, однако преобладающей во всех районах Горного Крыма лесной породой является дуб, занимающий 2/3 всей лесной площади [14, 15].

В Крыму произрастают три вида робуроидных дубов (секция *Quercus*, Roburoids [16]): дуб скальный *Q. petraea* (Matt.) Liebl., дуб пушистый *Q. pubescens* Willd. и дуб черешчатый *Q. robur* L. [1, 2, 14, 15, 17]. Эти виды широко распространены в Европе, включая все Причерноморские регионы. Их ареалы во многом перекрываются, однако виды различаются экологическими требованиями и репродуктивной стратегией. Отмечается наличие генетического потока между тремя видами [16, 18]. Их взаимному генетическому влиянию посвящен ряд работ (см. [11, 16] и ссылки в этих работах), в которых показано, что степень и направление интрогрессии могут варьировать не только между таксонами, но и в зависимости от региона, что может быть вызвано локальными факторами окружающей среды и разной историей популяции [11, 18, 19]. В Крыму три вида часто сосуществуют в смешанных популяциях [15] и также неизбежно испытывают взаимное генетическое влияние.

Очевидно, что исследования генетического разнообразия, филогеографии и микроэволюции возможны лишь при рассмотрении данных видов в комплексе.

Большое значение в распространении видов дуба в Крыму имеют температурный режим, условия увлажнения и особенности горных пород [15]. Преобладающей лесобразующей породой является дуб скальный (*Q. petraea*), который встречается почти повсеместно в горно-лесной области. Дуб пушистый (*Q. pubescens*) произрастает главным образом на известковых субстратах и в более засушливых местообитаниях. Менее распространен в Крыму дуб черешчатый (*Q. robur*) — им занято только около 1% площадей дубовых лесов [15]. На южном макросклоне *Q. robur* отсутствует, где, вероятно, он не выдерживает конкуренции с сидячецветными дубами (*Q. petraea*/*Q. pubescens*). На северном макросклоне *Q. robur* произрастает на высотах до 600 м, в долинах рек, на пологих склонах и депрессиях рельефа с более богатыми почвами.

Хотя рельеф Крыма не имеет ледниковых проявлений, плейстоценовые ледниковые циклы оказывали значительное воздействие на лесную биоту [6, 20–23]. Анализ современной и палеофауны показывает, что непрерывная лесная зона не сохранялась на протяжении всего плейстоцена [22–24]. Степень распространения и постоянство широколиственных лесов в максимумы стадиялов не известны, в последний ледниковый максимум преобладала степная растительность с небольшими лесными элементами [20]. Помимо влияния на размер популяции, ледниковые циклы плейстоцена были источником периодических трансгрессий, регрессий и опреснений вод Черного моря, что открывало и закрывало сухопутные и морские миграции лесных видов между Крымом и соседними регионами [25]. Это повлияло на генетическую структуру благородного оленя, некоторых видов пресмыкающихся, амфибий и др. [3, 7, 26]. Молекулярные исследования палеоостатков благородного оленя (*Cervus elaphus*) предполагают процесс исчезновения локальных популяций в холодные фазы и неоднократные волны колонизаций Крыма из разных направлений [26]. Исследования с помощью молекулярных маркеров видов тиса, бука, сосны [27–29] выявили влияние Балкан, Кавказа, Малой Азии на генетический пул популяций в Крыму, что также указывает на миграции между Крымом и этими регионами.

В филогеографических исследованиях видов дуба широко используются маркеры хлоропластной ДНК (хпДНК), имеющей у покрытосеменных растений материнское наследование, что позволяет, анализируя географическое распределение генетических линий, изучать прошлые процессы рассе-

ления вида, происходившие посредством распространения семян (желудей). Широкомасштабное филогеографическое исследование видов европейских робуроидных дубов [8, 9], основанное на PCR-RFLP анализе четырех хлоропластных фрагментов, выявило высокую степень дифференциации и географические “паттерны” хпДНК, отражающие пути послеледниковых колонизаций Европы. В работах R.J. Petit et al. [8, 9] было описано и нанесено на карту в общей сложности 32 RFLP-гаплотипа, объединенных в шесть материнских линий, из которых три (линии “А”, “Е”, “F”) были распространены в восточной части ареала, из них линии “Е” и “F” – в Крымско-Кавказском регионе. В Крыму было изучено только несколько образцов [9], не решивших вопросы связи Крыма с Кавказом, Малой Азией и Балканами.

В нашей предыдущей работе по исследованию изменчивости маркеров хпДНК в Крымско-Кавказском регионе [30] в анализ было включено 105 образцов из девяти крымских выборок трех видов *Quercus*. Предложенные оптимизированные варианты генотипирования предполагали сочетание анализа микросателлитных локусов хлоропластной ДНК (срSSR), секвенирования и рестриктового анализа (PCR-RFLP). Показано, что анализ срSSR хорошо маркирует хпДНК изменчивость, так как определенные этим методом гаплотипы совпадают с выявленными методом секвенирования. Кроме того, использование срSSR-маркеров существенно снижает затраты и трудоемкость генотипирования. В Крыму было выявлено пять хпДНК гаплотипов [30]. Популяции дуба на Крымском п-ве по хлоропластным маркерам были дифференцированы как от основного ареала дубов, его северной части, так и от Кавказа. Сравнительный анализ наших данных [30] с данными авторов из Турции [5] показал, что происхождение нескольких гаплотипов было связано с Малой Азией. В популяциях восточной части полуострова обнаружен западно-кавказский гаплотип (Z-1), что свидетельствует об исторических контактах популяций дуба из восточного Крыма с Западным Кавказом.

Целью настоящей работы является исследование филогеографии и структуры генетической изменчивости трех видов *Quercus* в Крыму. Для детального понимания географического распределения гаплотипов внутри лесной зоны Крыма, а также для установления соотношений частот гаплотипов у разных видов мы существенно увеличили число выборок с охватом большей части ареала трех видов дуба в Крыму. Для прояснения возможной связи с прилегающими территориями юго-восточной Европы и Кавказа были исследованы популяции *Quercus* в этих регионах и проведен анализ палеогеографических данных. Использовались разработанные в предыдущей работе [10] мар-

керы хлоропластной ДНК и оптимизированные варианты генотипирования [30].

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 55 популяционных выборок трех видов *Quercus* – всего 872 образца из трех географических регионов (табл. 1, рис. 1а). На Крымском п-ве дополнительно к ранее изученным было проанализировано 488 новых образцов из 33 выборок. Всего в Крыму исследовано 593 дерева из 42 популяционных выборок трех видов дуба. У дуба черешчатого (*Q. robur*) изучено 178 деревьев из 14 популяций, сбор образцов проводился в предгорной области и на северном макросклоне Крымских гор, в лесистых областях Главной и Внутренней гряд, охватывая весь ареал дуба черешчатого на полуострове, начиная с нижнего течения р. Бельбек и Байдарской долины на западе до крайней восточной точки произрастания *Q. robur* в районе Старого Крыма. У дуба скального (*Q. petraea*) и дуба пушистого (*Q. pubescens*) исследовано 415 деревьев из 28 популяций западного и восточного Крыма, материал отбирали как на северном, так и на южном макросклонах: в предгорной области, на хребтах Главной и Внутренней гряд и на южном берегу Крыма, на склонах разных экспозиций со значительным перепадом высот между выборками. В случаях совпадения или непосредственной близости точек сбора разных видов *Quercus* название у выборок совпадало, различаясь по номеру (см. табл. 1).

На Западном Кавказе дополнительно к двум имеющимся было проанализировано семь выборок из наиболее близких к Керченскому проливу территорий – из Западного Предкавказья, Западного Кавказа и Северо-Западного Закавказья, всего 127 образцов из пяти популяций *Q. robur* и двух популяций *Q. petraea* и *Q. pubescens* (см. табл. 1, рис. 1а). В Болгарии и на юге Румынии (далее в тексте – Балканский регион) нами исследовано шесть выборок *Q. robur*, всего 152 образца (см. табл. 1, рис. 1а).

Все выборки собраны в естественных местобитаниях дубов, вдали от населенных пунктов. Расстояние между изученными деревьями составляло не менее 50 м. Большинство выборок отбирали по маршруту протяженностью в несколько километров. В этом случае в таблице указаны координаты начала и конца маршрута, с перепадом высот внутри выборки. Таксономическую принадлежность устанавливали по описаниям, приведенным в работах [19, 31]. Виды идентифицировали по форме листа, характеру опушения, а также по длине плодоножек. Разделение образцов сидячецветных дубов на виды *Q. pubescens* или *Q. petraea* проводилось не для всех выборок, так как *Q. pubescens* отличает наличие густого войлочного опушения на листьях и молодых побегах, а

**Таблица 1.** Характеристика исследованных популяций дуба черешчатого *Q. robur* (*rb*), дубов скального *Q. petraea* (*pt*) и пушистого *Q. pubescens* (*pb*)<sup>1</sup>

№ выборки	Популяции	Координаты <sup>2</sup>		Высота над ур. м., м	n	H	Гаплотипы (число особей)
		с. ш.	в. д.				
<b>Крым, <i>Q. robur</i></b>							
1*	р. Бельбек ( <i>rb</i> )	44°40'45" 44°41'02"	33°36'55" 33°40'05"	20	13	0.1538	К (12), Т (1)
2	Тыловое ( <i>rb</i> )	44°26'13" 44°25'15"	33°44'42" 44°45'41"	295	13	0.5128	К (8), Т (5)
3	Озерное – Павловка ( <i>rb</i> )	44°29'22" 44°27'04"	33°47'40" 33°48'24"	245–290	19	0.4561	К (13), Т (6)
4	р. Боса ( <i>rb</i> )	44°27'07" 44°27'14"	33°49'37" 33°50'42"	305–340	9	0.5000	К (6), Т (3)
5	р. Марта ( <i>rb</i> )	44°41'56" 44°42'06"	34°00'40" 34°02'16"	290	28	0.5079	Т (16), К (12)
6*	р. Бодрак ( <i>rb</i> )	44°45'59"	34°02'00"	280	5	0.4000	Т (4), К (1)
7*	г. Ак-Кая ( <i>rb</i> )	45°07'01" 45°06'50"	34°35'56" 34°36'55"	142–227	15	0	Т (15)
8	р. Биюк-Карасу ( <i>rb</i> )	44°59'09"	34°36'36"	230	8	0	К (8)
9	Головановка – Красноселовка ( <i>rb</i> )	44°57'47" 44°55'54"	34°37'25" 34°37'56"	310–360	14	0.1429	К (13), Т (1)
10	Земляничное ( <i>rb</i> )	44°57'45"	34°49'27"	391	6	0	Z-I (6)
11	Пятницкое ( <i>rb</i> )	44°59'45" 45°00'06"	34°52'26" 34°51'53"	283–261	6	0	Z-I (6)
12	Переваловка – Грушевка ( <i>rb</i> )	45°00'14" 44°58'20"	34°58'25" 34°58'18"	280–420	23	0	Z-I (23)
13*	г. Агармыш ( <i>rb</i> )	45°00'38" 45°00'48"	35°00'07" 35°02'30"	340–420	17	0	Z-I (17)
14	Старый Крым ( <i>rb</i> )	45°00'38"	35°01'48"		2	0	Z-I (2)
	Среднее				12.7	0.2057	
	Всего				178		
<b>Крым, <i>Q. petraea</i>, <i>Q. pubescens</i></b>							
15	Аязьма ( <i>pb</i> )	44°27'37"	33°38'28"	110	6	0	К (6)
16	Тыловое ( <i>pt</i> )	44°26'13" 44°25'15"	33°44'42" 44°45'41"	295	11	0	К (11)
17	Боса ( <i>pt</i> )	44°27'23" 44°26'37"	33°50'18" 33°51'12"	300–520	28	0.0714	К (27), Е-II (1)
18	Мангуп ( <i>pt</i> )	44°34'40" 44°35'11"	33°46'20" 33°48'14"	250–335	18	0	К (18)
19*	Чуфут-Кале ( <i>pt</i> )	44°44'18"	33°55'58"	410	6	0	К (6)
20	р. Марта	44°42'37" 44°42'07"	34°00'27" 34°01'37"	260–420	27	0.5128	К (15), Т (12)
21	Кореизская тропа ( <i>pb</i> )	44°27'23" 44°26'28"	34°04'18" 34°04'58"	275–600	26	0	К (26)
22	Боткинская тропа	44°30'07"	34°06'08"	310	12	0	К (12)
23	Никита	44°30'28"	34°14'21"	100	8	0	К (8)
24	г. Аю-Даг	44°33'36"	34°20'21"	270–500	19	0	К (19)

Таблица 1. Продолжение

№ выборки	Популяции	Координаты <sup>2</sup>		Высота над ур. м., м	n	H	Гаплотипы (число особей)
		с. ш.	в. д.				
25	Малый Маяк	44°37'03"	34°21'30"	390	18	0	K (18)
26	г. Сераус ( <i>pt</i> )	44°38'38" 44°39'36"	34°22'09" 34°20'37"	395–580	21	0	K (19), K' (2)
27*	Изобильное ( <i>pt</i> )	44°42'07" 44°41'45"	34°20'46" 34°20'13"	245	9	0	K (9)
28	Солнечногорск – Рыбачье ( <i>pt</i> )	44°40'58" 44°45'49"	34°30'05" 34°35'04"	120–145	14	0	K (14)
29	Солнечногорск – Рыбачье ( <i>pb</i> )	44°40'58" 44°45'49"	34°30'05" 34°35'04"	70–140	16	0	K (16)
30*	р. Биюк-Карасу ( <i>pt</i> )	44°58'49"	34°36'33"	230	11	0	K (11)
31	Головановка – Красно- селовка ( <i>pt</i> )	44°57'47" 44°55'54"	34°37'25" 34°37'56"	310–360	11	0	K (11)
32	Морское	44°49'50"	34°48'05"		8	0	Z-I (8)
33	Земляничное–Ворон– Веселое	44°53'30" 44°54'05"	34°49'05" 34°49'14"	260–590	25	0.5200	K (13), Z-I (12)
34	Новый Свет ( <i>pb</i> )	44°49'45"	34°54'45"		14	0	Z-I (14)
35	Топловский монастырь	44°59'54"	34°52'32"	370	5	0	Z-I (5)
36	Переваловка – Гру- шевка ( <i>pt</i> )	45°00'09" 44°56'42"	34°58'28" 34°57'32"	260–430	18	0	Z-I (18)
37	г. Агармыш ( <i>pt</i> )	45°01'10" 45°00'36"	35°01'53" 35°00'12"	350–510	23	0	Z-I (23)
38	ур. Кизилташ ( <i>pt</i> )	44°55'43" 44°55'35"	35°06'44" 35°01'09"	150–360	12	0	Z-I (12)
39	Эчки-Даг ( <i>pt</i> )	44°55'38" 44°55'55"	35°07'49" 35°08'45"	140–270	15	0.1333	Z-I (14), E-III (1)
40*	Эчки-Даг ( <i>pb</i> )	44°54'36" 44°53'21"	35°08'40" 35°07'03"	220–270	14	0.3626	Z-I (11), E-III (3)
41	Старый Крым ( <i>pt</i> )	45°01'20" 44°59'57"	35°07'02" 35°08'33"	240–310	5	0	Z-I (5)
42*	Старый Крым ( <i>pb</i> )	44°58'56" 44°59'49"	35°09'47" 35°08'45"	130–220	15	0.1333	Z-I (14), E-I (1)
	Среднее				14.8	0.0619	
	Всего				415		
<b>Кавказ, <i>Q. robur</i>, <i>Q. petraea</i>, <i>Q. pubescens</i></b>							
43	Темрюк ( <i>rb</i> )	45°12'31"	37°17'06"	0	5	0	Z-I (5)
44	Школьный ( <i>rb</i> )	45°03'14"	37°34'33"	230	20	0	Z-I (20)
45	Гостагаевская ( <i>rb</i> )	44°58'58"	37°30'21"	150	11	0	Z-I (11)
46	Семигорский ( <i>rb</i> )	44°53'53"	37°36'10"	100	25	0	Z-I (25)
47	Крымск ( <i>rb</i> )	44°56'28"	38°03'24"	20	22	0	Z-I (22)
48	Сукко ( <i>pt</i> )	44°47'37"	37°24'56"	115	28	0	Z-I (28)
49	Кабардинка ( <i>pb</i> )	44°40'40"	37°53'56"	90	16	0	Z-I (16)
	Среднее				18.1	0	
	Всего				127		

Таблица 1. Окончание

№ выборки	Популяции	Координаты <sup>2</sup>		Высота над ур. м., м	n	H	Гаплотипы (число особей)
		с. ш.	в. д.				
<b>Болгария, Румыния, Q. robur</b>							
50	София (rb)	42°38'22" 42°37'40"	23°18'39" 23°19'37"	680–810	25	0	S"(25)
51	р. Искыр (rb)	43°40'14" 43°40'02"	24°25'58" 24°25'25"	25	24	0	S'(23), S"(1)
52	о. Вардим, р. Дунай (rb)	43°37'31" 43°37'22"	25°29'10" 25°28'53"	27	27	0	S'(27)
53	р. Ведеа (rb)	43°48'36" 43°48'39"	25°28'01" 25°27'47"	34	25	0.2200	G (22), S'(2), N (1)
54	Комана (rb)	44°10'36" 44°10'39"	26°09'22" 26°09'53"	65	25	0	N (22), R (3)
55	р. Тунджа (rb)	42°25'32" 42°15'02"	26°30'15" 26°33'48"	115	26	0	S'(26)
	Среднее				25.3	0.0037	
	Всего				152		

Примечание. n – объем выборки; H – несмещенное гаплотипическое разнообразие [36], вычисленное без учета изменчивости микросателлитных повторов; 1 – в выборках, где не проводилось разделение на *Q. petraea* или *Q. pubescens*, таксон не указан; 2 – указаны координаты начала и конца маршрута; \* – популяционные выборки, исследованные в работе [30].

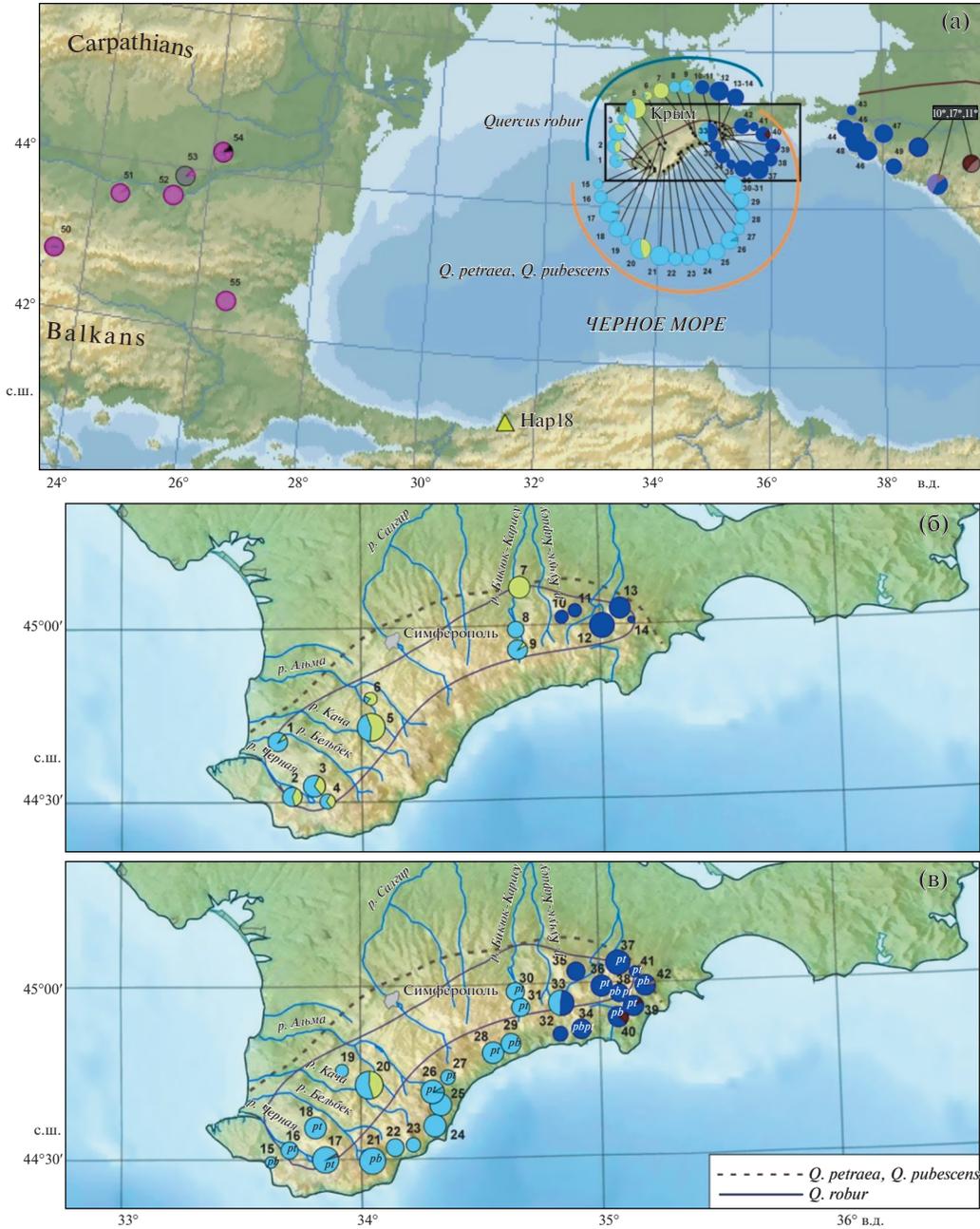
часть выборок собирали весной в безлистном состоянии. При этом принадлежность образцов к *Q. robur* устанавливали при сборе в любом состоянии, благодаря хорошей сохранности плюсок с плодоножками и листьев с черешками. Выделенной геномной ДНК проводилось с помощью метода СТАВ [32] из листьев, высушенных в силикагеле, или из свежих листьев, полученных в результате проращивания побегов, собранных в безлистном состоянии.

Для генотипирования был использован анализ изменчивости хлоропластных микросателлитных локусов (cpSSR) [10, 33] в сочетании с секвенированием и рестрикционным анализом. В наших предыдущих работах [10, 30] было установлено соответствие cpSSR-гаплотипов с гаплотипами, выявленными в результате секвенирования хлоропластных фрагментов, чем была подтверждена возможность типирования маркерами cpSSR-гаплотипов дуба в пределах регионов. Как было показано ранее [30], в Крыму почти все выявленные гаплотипы могут быть определены cpSSR-маркерами. Методика исследования изменчивости cpSSR-локусов методом вертикального электрофореза подробно описана в предыдущей работе [10]. Для всех 767 новых образцов Крымско-Кавказского и Балканского регионов был проведен анализ изменчивости четырех cpSSR-локусов (*mdt1*, *mdt3*, *mdt4*, *mdc4*), установлено сочетание аллелей (cpSSR-гаплотипы) (см. Приложение, табл. S1). Образцы каждого выявленного cpSSR-

гаплотипа были секвенированы по пяти хлоропластным фрагментам у разных видов в географически разных популяциях – всего у 48 образцов (рис. 2). Разделение гаплотипов, не отличающихся по cpSSR-маркерам внутри региона (гаплотипы E-I, E-II и E-III), осуществляли секвенированием фрагмента TFq. Подтверждали правильность типирования гаплотипов из разных регионов, кроме секвенирования, анализом RFLP (сочетание фрагмент/рестриктаза см. в Приложении, табл. S1).

Последовательности гаплотипов были получены для пяти хлоропластных фрагментов – *psaA-trnS* (ASq), *psbC-trnD* (CDq), *trnT-trnF* (TFq), *trnK-matK* и *trnH-psbA*, общей длиной ~10 100 пн (пар нуклеотидов). Используемые праймеры, условия амплификации и секвенирования описаны ранее в работах [10, 30]. ПРЦ-продукты очищали с помощью набора ExoSAP-IT (Affimetrix). Реакцию секвенирования проводили с помощью набора BigDye v. 3.1 (Applied Biosystems), продукты реакции анализировали на автоматическом секвенаторе Нанофор 05 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) в Центре коллективного пользования “Современные технологии для экологических исследований” ИЭРиЖ УрО РАН. Редактирование и выравнивание полученных последовательностей выполняли вручную в программе BioEdit v. 7.2.5 [34].

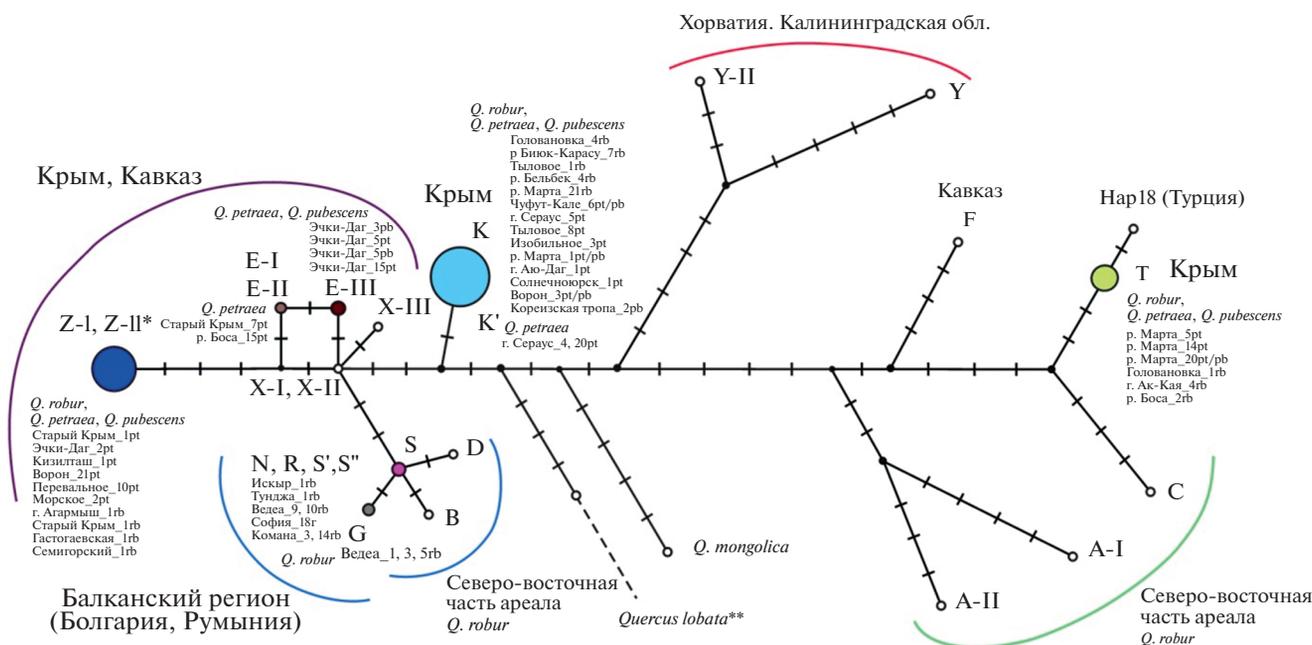
С помощью пакета программ Arlequin ver 3.5 [35] для каждой популяции оценивали несмещенное га-



**Рис. 1.** Географическое распределение хлоропластных гаплотипов *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens* (а) в Крымском (№ 1–42), Западно-Кавказском (№ 43–49) и Балканском (№ 50–55) регионах: цифрами обозначены номера популяций из табл. 1, где указаны координаты и частоты гаплотипов; в рамке приведены номера выборок (10\*, 11\*, 17\*) из работы [30]; цветовые обозначения гаплотипов соответствуют рис. 2; площадь диаграмм пропорциональна размеру выборки; указана северная граница крымско-кавказской части ареала дуба; треугольником маркировано происхождение пласта из базы данных [42]; б – распределение хлоропластных гаплотипов в популяциях дуба черешчатого *Quercus robur* на Крымском полуострове (сплошной линией обозначена граница ареала); в – распределение хлоропластных гаплотипов в популяциях дуба скального (*Q. petraea*) и дуба пушистого (*Q. pubescens*) на Крымском полуострове (прерывистой линией указана северная граница распространения дубов в Крыму); в выборках, где приводилось определение до вида, указан таксон: *pt* – *Q. petraea*, *pb* – *Q. pubescens*.

плотипическое разнообразие (*H*) [36]. Филогенетические деревья гаплотипов построены с использованием байесовского подхода (ВІ) в программе MrBayes v. 3.1.2 [37] и метода максимальной экономии

(МР) в программном пакете RAUP\*4.0b1 [38], параметры и модели ВІ- и МР-анализов описаны в работе [39]. В анализ включены все точечные мутации, инделы и инверсии, за исключением мутаций



**Рис. 2.** Филогенетическая сеть хлоропластных гаплотипов *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. mongolica* и *Q. lobata*, построенная на основе нуклеотидных последовательностей пяти фрагментов хпДНК с помощью метода “Median Joining” в программе NETWORK [41]; цветными кругами обозначены гаплотипы, полученные в настоящей работе; указаны виды с перечислением образцов, секвенированных для данного гаплотипа, с названием выборки и указанием номера образца и таксона (*rb*, *pt*, *pb*); площади кругов крымских гаплотипов пропорциональны доле гаплотипов в крымских популяциях *Quercus*; обозначения гаплотипов из Кавказского и Восточно-Европейского регионов соответствуют принятым в работах [10, 30]; поперечные линии обозначают мутации; \* – при построении филогенетической сети не учитывалась инверсия в CDq [30]; \*\* – при построении филогенетической сети не учитывались мутации, специфичные для внешней группы *Q. lobata*.

числа повторов микросателлитных последовательностей из-за их высокой гомоплазии [40]. Таким образом, близкородственные гаплотипы, которые отличались друг от друга только числом микросателлитных повторов (см. раздел “Результаты”), в филогенетическом анализе рассматривали как один гаплотип. Для изучения взаимоотношений гаплотипов был также использован подход “Median Joining” в программе NETWORK 5.0.1.0 [41]. В этом случае в анализ были включены все точковые мутации и инделы без учета изменчивости микросателлитных повторов, гомоплазмичной инверсии во фрагменте CDq [30] и парсимонически неинформативных мутаций внешней группы.

В филогенетический анализ, кроме гаплотипов из Крымско-Кавказского и Балканского регионов, были включены гаплотипы, ранее полученные из восточной части основного ареала *Q. robur* [10], и гаплотипы робуроидных дубов из других областей Кавказского региона [30], последовательности которых были помещены в GenBank. В анализе присутствовал гаплотип из Турции “Qpetraea\_249.35.12.4” (RFLP-гаплотип Нар18 согласно [9]). Были взяты участки соответствующих фрагментов полной последовательности хлоропластного генома (пластома) из коллекции пластовов европейских робуроидных дубов [42]. В

анализ был также включен гаплотип восточно-азиатского робуроидного дуба *Q. mongolica* Fisch. ex Ledeb. (секция *Quercus*, *Roburoids*) (пластом из GenBank, номер MK564083). В качестве внешней группы использован американский вид *Q. lobata* Nee (пластом из GenBank, CM012305) (секция *Quercus*, *Dumosae*), поскольку евроазиатские виды секции *Quercus* монофилетичны относительно американских видов той же секции по хпДНК [43].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Генотипирование сpSSR-маркерами было проведено для 872 деревьев дуба из всех популяций трех регионов. Выявлено пять сpSSR-гаплотипов в Крыму и на Западном Кавказе и пять – в Балканском регионе; сочетание аллелей сpSSR-локусов приведено в табл. S1 Приложения. По совокупности результатов секвенирования пяти фрагментов хпДНК в исследованных популяциях присутствовало 12 хлоропластных гаплотипов, из которых семь (K, K', T, E-I, E-II, E-III, Z-I) встретились в выборках Крыма и Западного Кавказа, пять (S', S'', N, R, G) распространены в Болгарии и Румынии. Большинство гаплотипов было описано в наших предыдущих работах [10, 30], буквенные обозначения совпадают с принятыми ра-

нее. Гаплотипы G, N, R встречались в более северных районах Восточной Европы у *Q. robur* [10]. Новые гаплотипы (K', S', S'') были близки описанным ранее и отличались от них одним или несколькими микросателлитными повторами в секвенированных фрагментах и/или сrSSR-локусах. В настоящей работе у таких вариантов к буквенному обозначению родственного гаплотипа добавлялся апостроф. Гаплотипы S', S'' из Болгарии и Румынии были близкородственны ранее описанному гаплотипу S, распространенному на западе Русской равнины [10]. В Крыму редкий гаплотип K' отличается от преобладающего гаплотипа K аллелем в сrSSR-локусе  $\mu\text{cd}4$ .

Секвенирование фрагментов хпДНК выявило полное соответствие результатам идентификации гаплотипов сrSSR-маркерам внутри двух регионов (Крымско-Кавказского или Балканского). Между регионами некоторые гаплотипы совпадают по сочетанию сrSSR-аллелей (см. Приложение, табл. S1). Результаты RFLP-анализа подтвердили правильность генотипирования и отсутствие общих гаплотипов между Крымско-Кавказским и Балканским регионами. В GenBank помещены последовательности, полученные для новых гаплотипов и новых таксонов *Quercus*, для фрагментов TFq, CDq и ASq (номера OP971967–OP971999).

По составу гаплотипов в популяциях видов *Quercus* исследованные регионы делятся на три области (см. рис. 1а): 1) Балканский регион, куда входят выборки Болгарии и южной Румынии; 2) Западный Крым и западная часть Восточного Крыма; 3) восток горно-лесной части Восточного Крыма и Западный Кавказ. В популяциях *Q. robur* Балканского региона распространено пять гаплотипов (S', S'', N, R, G), которые близки или совпадают с гаплотипами запада Русской равнины [10]. При этом в исследованных выборках Крыма и Кавказа гаплотипов северной (основной) части ареала, в т. ч. Балканского региона, не выявлено.

В Крыму в популяциях дуба обнаружено семь гаплотипов. Наиболее частые гаплотипы (K, T, Z-I) присутствуют у всех видов. У *Q. robur* преобладает гаплотип K (73%), два других гаплотипа – Z-I (30.3%) и T (28.7%) – также встречаются с высокой частотой. У *Q. petraea/Q. pubescens* преобладающими являются гаплотипы K (62.4%) и Z-I (32.8%), редкими – гаплотипы T (2.9%), E-III (0.96%), E-I (0.24%), E-II (0.24%), K'(0.5%). Для популяций дуба Крыма характерна низкая внутривидовая изменчивость: в выборках не встречается больше двух гаплотипов, в большинстве популяций обнаружен один гаплотип. В крымских популяциях *Q. robur* был выше показатель гаплотипического разнообразия (среднее  $H = 0.2057$ ), что связано с присутствием во мно-

гих выборках гаплотипов K и T с почти равной частотой.

Внутри Крымского полуострова наблюдается четкая географическая дифференциация популяций по составу гаплотипов, имеющая сходную структуру как у *Q. pubescens/Q. petraea*, так и в выборках *Q. robur*. По составу самые восточные популяции трех видов Горного Крыма сходны с Западно-Кавказском регионом, где во всех исследованных выборках разных видов *Quercus* присутствовал только гаплотип Z-I.

В Западном Крыму во всех популяциях *Q. robur* наблюдалась смесь гаплотипов K и T при некотором преобладании гаплотипа K. Далее на восток гаплотипы T и K распределялись более неравномерно (см. рис. 1б). В самой восточной области Горного Крыма во всех выборках *Q. robur* присутствовал только гаплотип Z-I.

В западной и центральной частях полуострова у *Q. petraea* и *Q. pubescens* преобладают популяции с гаплотипом K, гаплотип T обнаружен в единственной выборке (см. рис. 1в). Аналогично распределению гаплотипов в популяциях *Q. robur*, у *Q. petraea* и *Q. pubescens* на востоке горно-лесной области Восточного Крыма, начиная с выборки Морское (№ 32), наблюдается преобладание гаплотипа Z-I. Популяция Ворон (№ 33) является переходной – в ней совместно присутствуют гаплотипы K и Z-I почти в равном соотношении. Гаплотипы группы E (E-I, E-II, E-III) в малом количестве (6 деревьев, 1%) встретились в четырех выборках *Q. petraea* и *Q. pubescens* в основном в Восточном Крыму, в области преобладания Z-I. Редкий гаплотип K' обнаружен у *Q. petraea* в выборке г. Сераус.

Преобладающие в Крыму и на Кавказе гаплотипы не являются близкородственными: крымские гаплотипы T и K отличаются 14 мутациями, гаплотипы K и Z-I – семью (см.рис. 2). Гаплотип T почти совпадает с гаплотипом пластома Нар18 из Турции с разницей в одну мутацию, причем крымский гаплотип T на сети гаплотипов является предковым турецкому гаплотипу Нар18.

При построении филогенетических деревьев и сети хлоропластных гаплотипов мы не использовали информацию о числе микросателлитных повторов, поскольку они имеют высокую скорость мутирования, несопоставимую со скоростью обычных точковых мутаций или инделов и соответственно за время образования основных клад накапливают гомоплазии [40]. При этом у неродственных гаплотипов дуба из разных линий, выявленных в настоящем исследовании, часто наблюдается одинаковое число повторов, в том числе в используемых для типирования сrSSR-локусах (см. Приложение, табл. S1). Так как число микросателлитных повторов не учитывалось при филогенетическом анализе, на сети гаплоти-

пов и филогенетическом дереве гаплотипы S, R, N, S', S'', а также гаплотипы K и K', E-I и E-II занимают одинаковую позицию (см. рис. 2, 3).

Топология сети гаплотипов была сходной с топологией филогенетического дерева. На рис. 3 представлено байесовское дерево (BI) с указанием значений статистических поддержек клад обоих деревьев. Разрешение дерева в базальной части слабое, гаплотипы исследуемых европейских робуроидных дубов не образуют монофилетичную группу, топология дерева сходна с полученной нами ранее [30]. Некоторая разница в степени разрешения базальной части дерева связана с различием выбранной внешней группы. В нашей предыдущей работе [30] в качестве внешней группы был использован представитель рода *Trigonobalanus* (Fagaceae), так как анализировались представители дубов разных секций. Пластом *Q. lobata* ближе к последовательностям робуроидных дубов, что дает более разрешенную картину, в частности более точно определяет положение дуба монгольского. Гаплотип *Q. mongolica* с невысокой поддержкой (96/59) объединяется с восточной линией (линия I). На сети гаплотипов *Q. mongolica* занимает промежуточную позицию между основными кладами европейских робуроидных дубов (см. рис. 2).

Обнаруженные в Крыму гаплотипы филогенетически значительно отличаются, наиболее частые (K, T, Z-I) входят в разные клады, соответствующие дивергентным филогенетическим линиям (см. рис. 3). Гаплотип T относится к кладе гаплотипов линии I (100/96). Данная ветвь соответствует зеленой линии "E" из работы R.J. Petit et al. [8], гаплотипы которой распространены в восточной части ареала европейских робуроидных дубов. Гаплотипы E-I, E-III и Z-I входят в общую субкладу (100/72), состоящую из гаплотипов восточно-европейской части ареала и Кавказа (линия II). Ветвь гаплотипов восточно-европейской части ареала, куда входят гаплотипы из Балканского региона (G, S', S'', R, N) (100/69), соответствует синей линии "A" из работы [8]. Крымско-кавказские гаплотипы из этой субклады соответствуют фиолетовой линии "F" из [8], однако они не образуют монофилетичную кладу и, скорее, занимают базальную позицию к линии "A".

Дивергентный гаплотип K и соответствующую ему филогенетическую линию не удается сопоставить с линиями, определенными в работе R.J. Petit et al. [8]. Гаплотип K находится в базальном положении (89/54) к линии II, на сети гаплотипов ветвь K занимает промежуточную позицию между ветвями линии II и ветвью гаплотипов Y, Y-II из Хорватии и Калининградской обл. (Апеннинская линия "C" согласно [8]).

Анализ состава гаплотипов в выборках сидячецветных дубов, где был определен таксон (*Q. pet-*

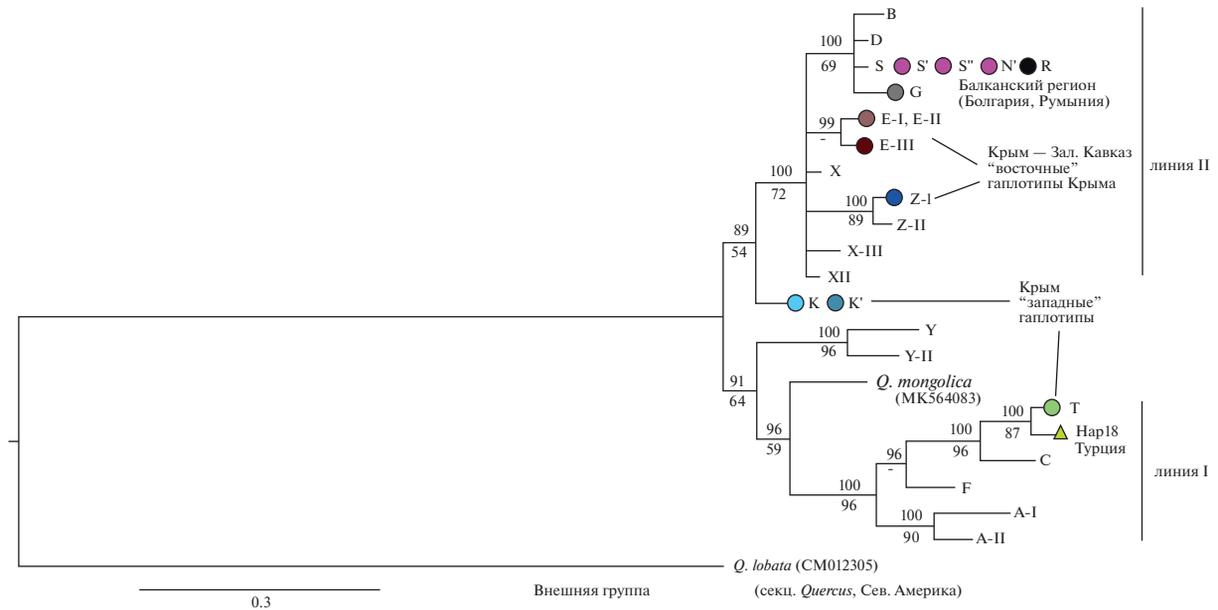
*raea* или *Q. pubescens*), показал совпадение между видами по частотам и составу гаплотипов. Несколько отличаются состав и географическое распределение гаплотипов у *Q. robur*, у которого доля гаплотипа T (28.7%) значительно больше, чем в популяциях *Q. petraea/Q. pubescens* (2.9%). Гаплотип T у *Q. robur* встретился как в западной, так и в восточной частях полуострова в 8 выборках, что говорит о его более широком распространении в популяциях этого вида. У сидячецветных дубов гаплотип T был обнаружен в единственной выборке р. Марта (№ 20), где присутствуют гаплотипы K и T в соотношении 56 и 44% соответственно, что почти совпадает с частотами гаплотипов у *Q. robur* в этой популяции. В отличие от *Q. petraea/Q. pubescens* у *Q. robur* не удалось выявить выборки, в которых бы происходило смешение "западных" и "восточных" гаплотипов (K и Z-I). Возможно, это связано с меньшей встречаемостью *Q. robur* в переходной зоне. Редкие гаплотипы E-I, E-II, E-III, отмеченные в Крыму у *Q. petraea* и *Q. pubescens*, не были встречены у *Q. robur*.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### *Филогенетические отношения гаплотипов и возможные исторические связи Крыма с другими регионами Причерноморья*

Выявленные в исследованных популяциях робуроидных дубов гаплотипы хпДНК относятся к нескольким дивергентным филогенетическим кладам (см. рис. 3). Наиболее вероятно, что дифференциация на глубоко дивергированные линии хлоропластной ДНК возникла в начале эволюции представителей секции *Quercus* в Евразии после их проникновения в Евразию из Америки в среднем и позднем миоцене [16]. Время расхождения основных линий хпДНК совпадает со временем дифференциации на европейскую и восточно-азиатскую группы робуроидных дубов и соответствует концу миоцена [44]. Таким образом, древность линий наиболее дивергентных гаплотипов исключает наличие связи между их филогенетическими отношениями и взаимным географическим распространением, поскольку происшедшие плиоценовые и плейстоценовые вымирания [16] и неоднократные колонизации во многом изменили первичную филогографическую структуру. Примером может служить смешение гаплотипов разных линий в Малой Азии, на Кавказе и Балканах [5, 30, 45].

В то же время географическое распределение гаплотипов в исследованных регионах демонстрирует три почти не перемешивающиеся области, резко отличающиеся составом гаплотипов: 1) Балканский регион; 2) Западная часть Крыма; 3) Восток Крыма и Западный Кавказ. Гаплотипы Балканского региона близкородственны гап-



**Рис. 3.** Филогенетическое дерево хлоропластных гаплотипов *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. mongolica* и внешней группы *Q. lobata*, построенное с помощью байесовского метода (50%-ный консенсус) на основе нуклеотидных последовательностей пяти фрагментов хлДНК общей длиной ~10 100 пн: над линиями приведены статистическая поддержка байесовским методом (значения апостериорной вероятности, %), под линиями — бутстреп-поддержка (MP, 1000 репликаций); цветными кругами маркированы гаплотипы, полученные в настоящей работе. Обозначения гаплотипов из Кавказского и Восточно-Европейского регионов и филогенетические линии I и II соответствуют принятым в работах [10, 30]; для гаплотипов *Q. mongolica* и *Q. lobata* приводятся номера пластов из GenBank; треугольником обозначен гаплотип пластома из базы данных [42].

типам изученных ранее популяций из Восточной Европы и западной части Русской равнины [10, 45] и соответствуют линии хлДНК, связанной своим распространением с балканским рефугиумом [8, 9]. По результатам настоящего исследования и нашим предыдущим данным [30], а также из проведенного сравнительного анализа данных из Грузии и Турции [4, 5], на Кавказе, в Крыму и Малой Азии гаплотипы этой линии отсутствуют.

Гаплотипы Крыма и Западного Кавказа относятся к трем дивергентным филогенетическим линиям (см. рис. 3). Два неродственных между собой гаплотипа Т и К распространены в западной и центральной частях Горного Крыма, их нет в восточной части Горного Крыма, на Кавказе и Балканах, но родственные им гаплотипы совместно присутствуют в Малой Азии. Так, на западе Турции широко распространен гаплотип Н5 [5], совпадающий с пластомом Нар18, который отличается одной мутацией от гаплотипа Т в Крыму. По тем же данным [5], в Турции и на юго-востоке Балканского п-ва распространены три гаплотипа, близкородственные гаплотипу К. Очевидное родство гаплотипов отражает историческую связь и миграции между Малой Азией и Крымом. Причем намного больший размер популяций и большее гаплотипическое разнообразие *Quercus* в Малой Азии [5] по сравнению с Крымом позволяет предполагать, что миграции происхо-

дили из Малой Азии в Крым. В Крыму почти нет гаплотипов, родственных Т и К, в то время как в Малой Азии родственных гаплотипов несколько. Отсутствие близкородственных гаплотипов в Крыму может быть связано как с недостатком времени для накопления мутаций, прошедшего с момента миграции, так и с малым эффективным размером популяции. В современных популяциях Болгарии и Румынии, по результатам настоящего исследования и работ других авторов [9, 45], преобладают гаплотипы балканской линии, следовательно, если миграция малоазиатских гаплотипов в Крым проходила через Балканы, то это могло происходить в другую эпоху, когда состав гаплотипов в этом регионе был иной.

Предполагаемые древние связи с последующей изоляцией популяций дуба в Крыму могли происходить со времен конца плейстоцена—начала плейстоцена, с формированием современного глубоководного Черноморского бассейна [25] и началом изолированной эволюции крымской биоты [2]. В регрессивные фазы Черноморского бассейна, происходившие в плейстоцене (~2.6 млн л. н., 1–2 млн л. н., ~80 тыс. л. н., ~30 тыс. л. н., ~10 тыс. л. н.) [25], сопровождавшиеся опреснением и обычно совпадавшие с эпохами похолоданий, неоднократно обнажались значительные площади шельфа, и Крым становился частью материка, что делало возможным обмен биотой как с Балканами,

так и Кавказом. Время таких миграций оценить затруднительно при недостатке палеоданных для большей части плейстоцена. В конце плейстоцена, с усилением тенденции на похолодание и повышение уровня моря [25], вероятность миграции по западному пути снижалась. В прибрежных районах Черного моря от Болгарии до Крыма во время последнего оледенения формировались степные сообщества [46], что исключало обмен лесными видами.

Относительно путей древних миграций также есть предположение, что расселение видов происходило не только через сухопутные мосты, но и обходными путями — по типу распространения прибрежных флор, а также посредством дальнего переноса (см. [2]). Данное предположение сходно с миграциями вдоль линии моря. Свидетельства о пересечении водных пространств с помощью птиц и посредством гидрохории у дубов предполагалось ранее в Балтийском бассейне [47, 48], где описаны пути колонизации вдоль морских побережий и через проливы. Предполагаемые расстояния составляли от 80 до 300 км, желуди не теряли всхожест после нахождения в течение нескольких дней даже в соленой воде (см. [48] и ссылки в этой работе). Гипотеза распространения вдоль черноморского побережья Балканского полуострова очень вероятна и может объяснить сходство гаплотипов робуроидных дубов Крыма и Малой Азии. Наши данные пока не могут окончательно подтвердить эту гипотезу, которая должна быть протестирована сбором материала вдоль линии побережья, возможно, выявив скрытые следы миграций. В частности, проверки требует описанный ранее в дельте Дуная RFPL-гаплотип 9' [45], ассоциированный нами предположительно с гаплотипами групп E и Z [30], обнаруженными в Крыму и на Кавказе.

При исследовании филогеографии сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на территории Причерноморья (Крым, Кавказ, Турция, Балканы) было обнаружено совпадение крымского гаплотипа митохондриальной ДНК с гаплотипом из Малой Азии (Турции) и Малого Кавказа и отличие от гаплотипов Большого Кавказа, Балкан и северной части ареала сосны обыкновенной [29]. В качестве объяснения была предположена древняя миграция из Малой Азии в Крым через Кавказ, с последующим распространением на Северном Кавказе производного гаплотипа и вытеснением предкового [29]. Однако возможно и альтернативное объяснение — дальний перенос семян сосны из Малой Азии в Крым по морю во время его опреснения. Родство гаплотипов Турции и Крыма, выявленное для дуба и сосны обыкновенной, их отличие от сопредельных территорий Кавказа и Балкан, очевидно, не являются случайными и отражают прошлые конфигурации ареалов, прошлые миграции и связи лесной рас-

тительности этих регионов при последующей изоляции лесной растительности Крымского полуострова.

#### *Существование рефугиумов Quercus в западной части Горного Крыма*

Распространение гаплотипов К и Т на большей части горно-лесной области Крыма предполагает сохранение популяций дуба в изолированных рефугиумах, располагавшихся во время плейстоцена в Горном Крыму. По имеющимся палеоданным, объединяющим несколько исследований (см. обзор [22]), пыльца *Quercus* отмечается в горно-лесном Крыму непрерывно, начиная с плейстоцена. В периоды оледенений ареал широколиственных пород значительно сокращался. Быстрое появление пыльцы дуба в областях предгорий в межстадиалы, особенно в западной части полуострова, свидетельствует о наличии рефугиумов в непосредственной близости, предположительно на теплых склонах южной экспозиции долин, пересекающих достаточно увлажненный северный макросклон Главной гряды Крымских гор [22]. По обзорным палеоматериалам, начиная с 120 тыс. л. н. [20, 22], если на востоке полуострова лесостепь неоднократно сменялась степью, то на западе такая смена происходила только в последние валдайские стадиалы. В более влажные периоды широколиственная растительность в Западном Крыму восстанавливалась значительно быстрее. Именно на юго-западе Горного Крыма наблюдается зона “микрорефугиумов” мезофильного вида ящериц *Lacerta agilis tauridica*, выявленная обособлением отдельных митохондриальных линий [6].

Несмотря на богатый палеозоологический материал, долгое время отмечалось отсутствие датированных растительных палеоданных из горных районов Крыма в периоды стадиалов [22], однако в последних исследованиях [21] появились свидетельства присутствия пыльцы дуба (в том числе *Q. robur*) на склонах высокой части Главной гряды в конце LGM. При наличии несомненных свидетельств непрерывного присутствия дуба на полуострове в плейстоцене сниженное гаплотипическое разнообразие и почти полное отсутствие гаплотипов, близкородственных К и Т, подтверждают значительные сокращения размеров популяций. Можно предположить, что в неблагоприятные эпохи ареал дуба с “западнокрымскими” гаплотипами Т и К был сильно фрагментирован и ограничен небольшими рефугиумами, располагавшимися в западной и центральной частях современной горно-лесной зоны. Один из рефугиумов угадывается в предгорной части северного макросклона (р. Марта), где совпадение состава гаплотипов выборки разных видов свидетельствует о длительном совместном произрастании *Q. robur* и

*Q. petraea* в районе обширных дубовых лесов на северном макросклоне наиболее высокой части Крымских гор. Отмечается [7], что распространение центральной линии ящериц *Darevskia lindholmi* также приурочено к самой высокой и влажной части Главной гряды, а также к самой влажной лесистой части Южной берега Крыма. Согласно ботанико-географическому и флористическому районированию, эти территории относятся к Бахчисарайско-Ялтинскому району [1] и Ялтинскому флористическому округу [2], которые характеризуются наибольшими высотами в Крыму, вследствие чего здесь наблюдается наибольшая дифференциация климата и других факторов.

#### Особенности популяций дуба Восточного Крыма и их связь с Западным Кавказом

Распространение в лесах восточной части Крыма исключительно кавказских гаплотипов Z-I, E-I и E-III доказывает кавказское происхождение дуба на востоке полуострова, что в свою очередь предполагает отсутствие здесь рефугиумов — источников послеледниковой реколонизации. Исходя из обзора палеоданных [22], разница в растительности между западными и восточными областями на протяжении всего плейстоцена была существенной: восточные районы Крыма были более засушливыми, чем центральные и западные, и лесная растительность там исчезала неоднократно, сменяясь сухой степью. Значительное уменьшение атмосферного увлажнения в восточном направлении также проявляется в современном распределении температуры и осадков [1]. Для сравнительно низких гор восточной части Восточного Крыма, с менее выраженной поясностью и отсутствием четкого разделения на макросклоны, снижается возможность формирования микрорефугиумов.

Достаточно резкая граница между областями распространения хлоропластных гаплотипов дуба в Крыму может свидетельствовать об относительно недавнем времени формирования зоны вторичного контакта между местными и кавказскими популяциями дуба. Единственная выборка (№ 33) со смешанными гаплотипами обнаружена в очень локальном районе, к востоку от р. Кучук-Карасу. К западу и востоку от указанного района у всех видов дуба найдены “западные” (Т и К) или “восточные” (Z-I, группа E) гаплотипы соответственно. Ни одного из “восточных” гаплотипов (за исключением одной особи с E-II) не было найдено к западу от выборок Ворон, Земляничное и Морское. В районе зоны контакта отсутствуют географические барьеры — сравнительно невысокие горные хребты и перевалы не могли стать препятствием на пути расселения или обмена. Наблюдаемая структура может быть результатом “конкурентной” колонизации при миграции

из разных источников. Расселение из западно-крымского рефугиума популяций с “западными” гаплотипами К и Т достигло основных рек на востоке, берущих начало с Главной гряды Крымских гор (реки Биюк-Карасу и Индол). Вполне вероятно, что дальнейшая колонизация на восток автохтонных популяций из западно-центральных районов Горного Крыма была остановлена встречным потоком, несущим “восточные” гаплотипы. Распределение двух групп гаплотипов маркирует зону встречи. Узость этой зоны может свидетельствовать об относительно недавней колонизации, по-видимому после LGM. Очевидно, что источником волны колонизации, несущей гаплотипы Z-I, E-I и E-II, мог быть только Кавказ, где они распространены на более обширной территории, чем в Крыму, и имеют там филогенетически родственные гаплотипы [30]. Менее вероятно локализация рефугиума в невысоких горах Восточного Крыма, так как граница между группами гаплотипов при наличии нескольких рефугиумов была бы менее четкой.

Формирование и долговременная устойчивость контактных зон матерински наследуемых гаплотипов ранее обсуждались для видов *Quercus* в Скандинавии [47], для северо-восточной части ареала *Q. robur* [10] и у пихты белой *Abies alba* в Карпатах [49]. Описанная в данных работах резкая граница в зоне контакта свидетельствует о встрече фронтов колонизации, когда выживание вновь прибывших семян очень маловероятно в уже существующих популяциях. Нераспространение далее матерински наследуемых гаплотипов свидетельствует о наличии местного пула желудей, который эффективно подавляет любой поток цитоплазматических генов на уже занятую дубом территорию [47]. Это приводит к сохранению устойчивых зон “цитоплазматической демаркации” в местах начального контакта двух разнонаправленно распространяющихся популяций из рефугиумов, что неоднократно имело место в истории европейских дубов.

Зона встречи гаплотипов разного происхождения у видов *Quercus* в Крыму совпадает с западной границей распространения митохондриальных гаплотипов кавказского происхождения у прыткой ящерицы, проникших в Крым в ходе голоценовой экспансии восточного подвида *Lacerta a. exigua* и формировании гибридных популяций с аборигенным горно-крымским подвидом *L. a. tauridica*. Распространение в Крым мезофильной западно-кавказской биоты, возможно, произошло на рубеже плейстоцена и голоцена, когда Азовского моря не существовало, либо в теплые и влажные периоды начала голоцена, отмечаемые как в Крыму [21, 22], так и на прилегающей к Крыму территории Прикубанья и Таманского полуострова [50].

Согласно геоботаническому районированию Горного Крыма, область “восточных” гаплотипов дуба совпадает с границей Судакско-Феодосийского р-на, который включает территорию к востоку от р. Кучук-Карасу [1] и соответствует восточно-горно-крымскому флористическому району [2]. Эта наиболее восточная в Горном Крыму территория характеризуется более холодным и сухим полуконтинентальным климатом, со снижением роли средиземноморских видов при возрастании роли степной биоты. Флористические особенности района заключаются в наличии целого ряда дифференцирующих видов [1]. По данным изменчивости хпДНК дуба, именно в этом районе проявляется связь лесной биоты Крыма с Кавказом. Исследования структуры генетической изменчивости и филогеографии других видов деревьев (тис, бук) в Причерноморье, включая Крым, демонстрируют смешение в Крыму генетических линий разного географического происхождения [27, 28], однако в настоящей работе впервые показана дифференциация популяций древесных видов в пределах Крыма, обусловленная его колонизацией из разных источников. Для подтверждения гипотезы о роли лесной биоты Западного Кавказа в колонизации восточной части лесной зоны Крыма необходимы дальнейшие исследования с привлечением других древесных видов.

#### Сравнение структуры изменчивости хпДНК видов *Quercus* в Крыму

Установлено значительное совпадение по составу гаплотипов популяций трех видов *Quercus* в Крыму. Полиморфизм хпДНК дубов в Крыму слабо связан с таксономической принадлежностью и в основном структурирован географически: у всех трех видов совпадают наиболее частые гаплотипы, для всех из них наблюдаются различия западных и восточных популяций. Однако соотношение гаплотипов у *Q. robur* отличается от состава гаплотипов в популяциях *Q. petraea* и *Q. pubescens*. Основное различие заключается в частоте встречаемости гаплотипа Т (см. рис. 1б, 1в), присутствие которого у сидячецветных дубов наблюдалось только в выборке р. Марта (№ 20), где *Q. petraea* образует смешанную популяцию с *Q. robur*. Интересно, что в других смешанных популяциях, где у дуба черешчатого присутствует гаплотип Т, у видов *Q. petraea/Q. pubescens* он не встретился ни разу. Поэтому можно заключить, что, во-первых, первоначально гаплотип Т в Крыму появился у *Q. robur* и, во-вторых, гибридизация *Q. robur* с другими дубами — достаточно редкое явление. Выраженное различие в соотношении гаплотипов на крайнем юго-западе, в популяциях Байдарской долины (см. рис. 1б, 1в), может свидетельствовать о недавнем проникновении современных популяций дуба в долину Западного

Крыма из горных рефугиумов. При ограниченном текущем потоке в популяциях [18] обмен материнских генов происходит достаточно продолжительное время, что объясняет неравенство в соотношении гаплотипов.

Для видов *Q. petraea* и *Q. pubescens* не обнаружено различий в соотношении гаплотипов. Ожидается, что у этих наиболее распространенных в Крыму видов выявлено несколько большее число гаплотипов. Редкие гаплотипы кавказского происхождения (Е-I, Е-II, Е-III) найдены здесь как у *Q. petraea*, так и у *Q. pubescens* как примесь к гаплотипам Z-I, но не встречаются в крымских популяциях *Q. robur*. Однако они широко распространены у дубов, в том числе у *Q. robur*, на Кавказе [30]. Возможной причиной является отсутствие *Q. robur* на южном макросклоне, где в основном был найден гаплотип Е. Характерно, что гаплотипы группы Е обнаружены в основном в восточных районах Крыма, однако отсутствуют в наиболее близких к Крыму популяциях Кавказа (см. рис. 1а). Гаплотипы группы Е на Кавказе начинают встречаться и преобладать в более удаленных от Крыма областях как вдоль побережья, так и на северном макросклоне, а также в Закавказье, что было показано в предыдущей работе [30]. В связи с этим наиболее правдоподобным объяснением появления гаплотипов группы Е в Крыму могут быть множественные миграции как по сухопутному мосту через Таманский п-ов, так и по морю со стороны кавказского побережья из районов распространения гаплотипа Е. Последнее обстоятельство также объясняет отсутствие *Q. robur* среди крымских носителей гаплотипа Е.

Близкий состав гаплотипов трех видов дуба в Крыму говорит о долговременном совместном существовании крымских популяций разных видов. Причиной наблюдаемого различия частот гаплотипов между *Q. robur* и другими видами может быть разный уровень исторического генного потока между этими близкородственными видами [5, 16, 18]. Во многих работах было показано [16, 18], что степень гибридизации у *Q. robur* с сидячецветными дубами ниже, чем между *Q. petraea* и *Q. pubescens*, что обусловлено более выраженным репродуктивным барьером. Несовпадение частот гаплотипов *Q. robur* с другими видами на территории Крыма в локальном масштабе подтверждает невысокую степень гибридизации и ограничение текущего генного потока между *Q. robur* и *Q. petraea/Q. pubescens*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00667, <https://rscf.ru/project/22-24-00667/>. Авторы выражают благодарность Л.И. Агафонову, Н.В. Семерикову, Е.Г. Филиппову, В.В. Кукарских, Х.У. Алиеву, Т.В. Семериковой, М.А. Полежаевой, Е.С. Кашириной, В.В. Корженевскому за помощь в сбо-

ре образцов дуба и анонимному рецензенту за конструктивные замечания.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объектов людей и животных. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Дух Я.П.* Растительный покров горного Крыма (структура, динамика, эволюция и охрана). Киев: Наукова думка, 1992. 256 с.
2. *Ена А.В.* Природная флора Крымского полуострова. Симферополь: Н. Орианда, 2012. 232 с.
3. *Dufresnes C., Litvinchuk S.N., Leuenberger J.* et al. Evolutionary melting pots: a biodiversity hotspot shaped by ring diversifications around the Black Sea in the Eastern tree frog (*Hyla orientalis*) // *Mol. Ecol.* 2016. V. 25. P. 4285–4300. <https://doi.org/10.1111/mec.13706>
4. *Ekhvaia J., Simeone M.C., Silakadze N., Abdaladze O.* Morphological diversity and phylogeography of the Georgian durmast oak (*Q. petraea* subsp. *iberica*) and related Caucasian oak species in Georgia (South Caucasus) // *Tree Genet. Genom.* 2018. V. 14. № 2. Article number 17. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1232-6>
5. *Tekpinar A.D., Aktas C., Kansu C.* et al. Phylogeography and phylogeny of genus *Quercus* L. (Fagaceae) in Turkey implied by variations of trnT((UGU))-L-(UAA)-F((GAA)) chloroplast DNA region // *Tree Genet. Genom.* 2021. V. 17. № 5. Article number 40. <https://doi.org/10.1007/s11295-021-01522-x>
6. *Кукушкин О.В., Ермаков О.А., Иванов А.Ю.* и др. Филогеография прыткой ящерицы в Крыму по результатам анализа гена цитохрома b: древний рефугиум на полуострове, поздняя экспансия с севера и первые свидетельства гибридизации подвидов *Lacerta agilis tauridica* и *L. a. exigua* (Lacertidae: Sauria) // *Труды ЗИН РАН.* 2020. Т. 324. № 1. С. 56–99. <https://doi.org/10.31610/trudyzin/2020.324.1.56>
7. *Kukushkin O., Ermakov O., Gherghel I.* et al. The mitochondrial phylogeography of the Crimean endemic lizard *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae): Hidden diversity in an isolated mountain system // *Vertebrate Zoology.* 2021. V. 71. P. 559–576. <https://doi.org/10.3897/vz.71.e62729>
8. *Petit R.J., Csai U.M., Bordacs S.* et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks – phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations // *Forest Ecol. Management.* 2002. V. 156. № 1–3. P. 5–26. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00645-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00645-4)
9. *Petit R.J., Brewer S., Bordacs S.* et al. Identification of refugia and postglacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence // *Forest Ecol. Management.* 2002. V. 156. P. 49–74. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00634-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00634-X)
10. *Семерикова С.А., Исаков И.Ю., Семериков В.Л.* Изменчивость хлоропластной ДНК и филогеография дуба черешчатого *Quercus robur* L. в восточной части ареала // *Генетика.* 2021. Т. 57. № 1. С. 56–71. [*Semerikova S.A., Isakov I.Yu., Semerikov V.L.* Chloroplast DNA variation and phylogeography of pedunculate oak *Quercus robur* L. in the eastern part of the range // *Russ. J. Genet.* 2021. V. 57. № 1. P. 47–60. doi:10.1134/S1022795421010130] <https://doi.org/10.31857/S0016675821010136>
11. *Degen B., Yanbaev Y., Mader M.* et al. Impact of gene flow and introgression on the range wide genetic structure of *Quercus robur* (L.) in Europe // *Forests.* 2021. V. 12. № 10. Article number 1425. <https://doi.org/10.3390/f12101425>
12. *Таштадэян А.Л.* Флористические области Земли. Л.: Наука, 1978. 247 с.
13. *Гаркуша Л.Я., Багрова Л.А., Позаченюк Е.А.* Разнообразие ландшафтов Крыма со средиземноморскими элементами флоры // *Уч. зап. Таврического национального ун-та им. В.И. Вернадского. Серия “География”.* 2012. Т. 25 (64). № 2. С.36–47.
14. Леса СССР. М.: Наука, 1966. Т. 3 (Леса юга европейской части СССР и Закавказья). 463с. (СО АН СССР, Институт леса и древесины).
15. *Плугатарь Ю.В.* Леса Крыма. Симферополь: ИТ “Ариал”, 2015. 385 с.
16. *Kremer A., Hipp A.L.* Oaks: an evolutionary success story // *New Phytologist.* 2020. V. 226. № 4. P. 987–1011. <https://doi.org/10.1111/nph.16274>
17. *Меницкий Ю.Л.* Дубы Азии. Л.: Наука, 1984. 315 с. [*Menitsky Y.L.* Oaks of Asia. Science Publishers of Enfield Press, USA, 2005. 549 p.]
18. *Curtu A.L., Gailing O., Finkeldey R.* Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community // *BMC Evolutionary Biology.* 2007. V. 7. Article number 218. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-218>
19. *Семериков Л.Ф.* Популяционная структура древесных растений (на примере видов дуба европейской части СССР и Кавказа). М.: Наука, 1986. 140 с.
20. *Gerasimenko N.* Environmental changes in the Crimean mountains during the Last Interglacial–Middle Pleniglacial as recorded by pollen and lithopedology // *Quat. Int.* 2007. V. 164–165. P. 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2006.12.018>
21. *Gerasimenko N.P., Bezusko L.G., Avdieienko Y.L., Yanevich A.A.* Late Glacial and Holocene vegetational and climate changes and their impact on material cultures in the Crimean Mountains (founded on pollen data from cave deposits) // *Quat. Int.* 2022. V. 632. № 20. P. 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2021.12.018>
22. *Cordova C.E., Gerasimenko N.P., Lehman P.H., Kliukin A.A.* Late Pleistocene and Holocene paleoenvironments of Crimea: pollen, soils, geomorphology, and geoarchaeology // *Geology and Geoarchaeology of the Black Sea Region: Beyond the Flood Hypothesis* / Eds. Buynovich I.V., Yanko-Hombach V., Gilbert A.S., Martin R.E. Book series: Geological Society of America Special Paper. 2011. V. 473. P. 133–164. [https://doi.org/10.1130/2011.2473\(09\)](https://doi.org/10.1130/2011.2473(09))
23. *Markova A.K.* Small mammals from Palaeolithic of the Crimea // *Quat. Int.* 2011. V. 231. № 1–2. P. 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2010.07.016>
24. *Cameron R.A.D., Pokryszko B.M., Horsak M.* Forest snail faunas from Crimea (Ukraine), an isolated and incomplete Pleistocene refugium // *Biological J. Linnean Soc.* 2013. V. 109. P. 424–433. <https://doi.org/10.1111/bij.12040>

25. *Krijgsman W., Tesakov A., Yanina T. et al.* Quaternary time scales for the Pontocaspian domain: Interbasinal connectivity and faunal evolution // *Earth-Science Reviews*. 2019. V. 188. P. 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2018.10.013>
26. *Doan K., Mackiewicz P., Sandoval-Castellanos E. et al.* The history of Crimean red deer population and *Cervus* phylogeography in Eurasia // *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2018. V. 183. № 2. P. 208–225. <https://doi.org/10.1093/ZOOLINNEAN/ZLX065>
27. *Mayol M., Riba M., González-Martínez S. C. et al.* Adapting through glacial cycles: insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*) // *New Phytologist*. 2015. V. 208. № 3. P. 973–986. <https://doi.org/10.1111/nph.13496>
28. *Gomory D., Paule L., Mačejovsky V.* Phylogeny of beech in Western Eurasia as inferred by approximate Bayesian computation // *Acta Soc. Botan. Poloniae*. 2018. V. 87. № 2. P. 1–11. <https://doi.org/10.5586/asbp.3582>
29. *Semerikov N.V., Petrova I.V., Sannikov S.N. et al.* Cytoplasmic DNA variation does not support a recent contribution of *Pinus sylvestris* L. from the Caucasus to the main range // *Tree Genetics & Genomes*. 2020. V. 16. № 4. Article number 59. <https://doi.org/10.1007/s11295-020-01458-8>
30. *Семерикова С.А.* Маркеры хлоропластной ДНК в исследовании филогеографии робуроидных дубов (*Quercus* L. sect. *Quercus*, Fagaceae) крымско-кавказского региона // *Генетика*. 2023. Т. 59. № 1. С. 50–64. doi: 10.31857/S0016675823010095
31. *Определитель высших растений Крыма*. Под ред. Рубцова Н.И. Л.: Наука, 1972. 555 с.
32. *Devey M.E., Bell J.C., Smith D.N. et al.* A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. № 6. P. 673–679. <https://doi.org/10.1007/BF00226088>
33. *Deguilloux M.F., Dumolin-Lapegue S., Gielly L. et al.* A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus* // *Mol. Ecol. Notes*. 2003. V. 3. № 1. P. 24–27. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00339.x>
34. *Hall T.A.* BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids Symp. Series*. 1999. V. 41. P. 95–98.
35. *Excoffier L., Lischer H.* ARLEQUIN ver. 3.5: An integrated software package for population genetics data analysis. Bern: Computational and Molecular population genetics Lab (CMPG). Institute of Ecology and Evolution, Univ. Bern, Bern, Switzerland, 2011. 174 p.
36. *Nei M.* *Molecular evolutionary genetics*. N. Y.: Columbia University Press, 1987. 512 p.
37. *Ronquist F., Huelsenbeck J.P.* MrBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. № 12. P. 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
38. *Swofford D.L.* PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (\* and other methods). Version 4.0 beta10. Sunderland: Sinauer Associates, Massachusetts. 2002.
39. *Семерикова С.А., Исаков И.Ю., Семериков В.Л.* Изменчивость хлоропластной ДНК отражает историю *Tilia cordata* s. l. в восточной части ареала // *Генетика*. 2020. Т. 56. № 2. С. 188–200. [*Semerikova S.A., Isakov I.Yu., Semerikov V.L.* Chloroplast DNA variation shed light on the history of lime tree (*Tilia cordata* s. l.) in the eastern part of the range // *Russ. J. Genet.* 2020. V. 56. № 2. P. 192–203. doi:10.1134/s1022795420020118] <https://doi.org/10.1134/S0016675820020113>
40. *Ingvarsson P.K., Ribstein S., Taylor D.R.* Molecular evolution of insertions and deletion in the chloroplast genome of *Silene* // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. № 11. P. 1737–1740. <https://doi.org/10.1093/molbev/msg163>
41. *Bandelt H.J., Forster P., Röhl A.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. № 1. P. 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
42. [https://quercusportal.pierroton.inra.fr/index.php?p=GENOMIC\\_SEQ](https://quercusportal.pierroton.inra.fr/index.php?p=GENOMIC_SEQ).
43. *Pham K.K., Hipp A.L., Manos P.S., Cronn R.C.* A time and a place for everything: phylogenetic history and geography as joint predictors of oak plastome phylogeny // *Genome*. 2017. V. 60. № 9. P. 720–732. <https://doi.org/10.1139/gen-2016-0191>
44. *Hipp A.L., Manos P.S., Hahn M. et al.* Genomic landscape of the global oak phylogeny // *New Phytologist*. 2020. V. 226. № 4. P. 1198–1212. <https://doi.org/10.1111/nph.16162>
45. *Curtu A.L., Sofletea N., Toader A.V., Enescu M.C.* Leaf morphological and genetic differentiation between *Quercus robur* L. and its closest relative, the drought-tolerant *Quercus pedunculiflora* K. Koch. // *Annals of Forest Science*. 2011. V. 68. № 7. P. 1163–1172. <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0105-z>
46. *Atanassova A.* Palaeoecological setting of the western Black Sea area during the last 15000 years // *The Holocene*. 2005. V. 15. P. 576–584. <https://doi.org/10.1191/0959683605hl832rp>
47. *Ferris C., King R.A., Vainola R., Hewitt G.M.* Chloroplast DNA recognises three refugial sources of European oaks and shows independent eastern and western immigrations to Finland // *Heredity*. 1998. V. 80. P. 584–593.
48. *Jensen J.S., Gillies A., Csaikl U. et al.* Chloroplast DNA variation within the Nordic countries // *Forest Ecol. Management*. 2002. V.156. P. 167–180. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00641-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00641-7)
49. *Gomory D., Paule L., Krajmerova D. et al.* Admixture of genetic lineages of different glacial origin: a case study of *Abies alba* Mill. in the Carpathians // *Plant Syst Evol*. 2012. V. 298. P. 703–712. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0580-6>
50. *Bolikhovskaya N.S., Porotov A.V., Richards K. et al.* Detailed reconstructions of Holocene climate and environmental changes in the Taman Peninsula (Kuban River delta region) and their correlation with rapid sea-level fluctuations of the Black Sea // *Quat. Int.* 2018. V. 465. P. 22–36. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2017.08.013>