

УДК [575.17+575.22]:582.683.2(470.5)

## ПЕРВЫЕ ДАННЫЕ О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ВИДОВ РОДА *Alyssum* L. СЕКЦИИ *Odontarrhena* НА УРАЛЕ, СПОСОБНЫХ К НАКОПЛЕНИЮ НИКЕЛЯ

© 2022 г. Д. Р. Юнусова<sup>1</sup>, \*, А. Ю. Тептина<sup>2</sup>, В. Л. Семериков<sup>1</sup>, М. А. Полежаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных Уральского отделения  
Российской академии наук, Екатеринбург, 620144 Россия

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, 620002 Россия

\*e-mail: dianaiunusova@mail.ru

Поступила в редакцию 18.01.2021 г.

После доработки 20.01.2022 г.

Принята к публикации 02.02.2022 г.

Впервые рассматриваются филогенетические отношения между видами *Alyssum obovatum* (С.А. Мей.) Turcz., *A. tortuosum* Willd. и *A. litvinovii* Knjaz. секции *Odontarrhena* на Урале, имеющими способность к накоплению никеля. Анализ изменчивости двух фрагментов хлоропластной ДНК позволил выявить 15 гаплотипов, распределение которых структурировано географически. Для некоторых популяций *A. obovatum* и *A. tortuosum* обнаружены видоспецифичные гаплотипы, однако большая часть близкородственных гаплотипов встречается у географически близких популяций обоих видов. Эндемичный вид *A. litvinovii* оказался мономорфным и генетически близким к двум другим видам.

**Ключевые слова:** генетическая изменчивость, хпДНК, Урал, гипераккумуляторы, *Alyssum*, *trnS-trnG*, *trnH-psbA*.

DOI: 10.31857/S0016675822060145

Гипераккумуляторы — растения, способные накапливать в своих тканях тяжелые металлы в концентрациях в сотни и тысячи раз больших, чем другие растения [1]. На сегодняшний день около 25% известных растений-гипераккумуляторов обнаружены в семействе Brassicaceae [2]. В основном это представители родов *Alyssum* L., *Noccaea* Moench., *Thlaspi* L., чаще всего накапливающих никель. Уникальная особенность этих растений используется при фиторемедиации — стратегии удаления тяжелых металлов из окружающей среды без использования химических или механических методов [3]. Многие растения-гипераккумуляторы в пределах Brassicaceae обладают большим запасом генетической изменчивости, что делает их перспективными для отбора в сельскохозяйственных и рекультивационных целях [4]. Однако помимо биотехнологического приложения, растения-гипераккумуляторы представляют интерес в качестве модельного объекта для изучения процессов микроэволюции и адаптации к экстремальным условиям среды. Так, в некоторых работах отмечается корреляция между уровнем генетической изменчивости и способностью к накоплению тяжелых металлов [5, 6], что обуславливает актуаль-

ность изучения генетического разнообразия и филогении данных видов.

В роде *Alyssum*, содержащем более сотни видов, в настоящее время проводится таксономическая ревизия. В отношении многих европейских видов выявлено несоответствие существующих таксономических концепций и филогенетических реконструкций, основанных на молекулярно-генетических маркерах, пloidности, а также морфологических параметрах [7–9]. Более того, ряд таксонов, до недавнего времени относившихся к роду *Alyssum* в ранге секции *Odontarrhena*, в настоящий момент предлагается выделить в отдельный род *Odontarrhena* [10]. Систематика данной секции в Северной Евразии не упорядочена. Спектр взглядов на таксономическое разнообразие *Odontarrhena* сводится к нескольким подходам, согласно которым следует выделять как единственный полиморфный вид *Alyssum obovatum* (= *Odontarrhena obovata*) [11], так и два–три вида [12], и даже восемь видов только для азиатской части России и Монголии [13]. Таким образом, границы и объем *A. obovatum* дискуSSIONY [14].

Урал — зона совместного произрастания трех видов *Alyssum* секции *Odontarrhena*. Виды *A. obovatum* и *A. tortuosum* имеют широкий, но дизъюнк-

**Таблица 1.** Географические координаты мест сбора и выявленные гаплотипы хпДНК в изученных выборках *A. obovatum*, *A. tortuosum*, *A. litvinovii*, *A. lenense*

№	Популяция	Коорд., с.ш./в.д.	<i>N</i>	<i>M<sub>h</sub></i>	<i>N<sub>s</sub></i>
1	<i>A. litvinovii</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28'/58°10'	17	c:17	c1:1
2	<i>A. obovatum</i> Башк., Шигаево	53°48'/58°11'	17	d:8 c:9	d2:1
3	<i>A. obovatum</i> Башк., Калкан	54°25'/59°20'	9	d:1 c:8	d1:1
4	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Егоза	55°45'/60°26'	12	b:12	b1:1
5	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Вишневогорск	55°58'/60°38'	2	c:1 e:1	c4:1
6	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Горн. воздух	53°42'/58°39'	13	c:13	c2:2
7	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Карабаш	55°46'/60°19'	10	b:10	b2:2
8	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28'/58°10'	24	c:4 f:12 e:7 d:1	f1:2 c3.1:1 f2:1 c3.2:1
9	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Аккермановка	51°11'/58°08'	23	a:23	a:1
10	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Хабарное	51°06'/58°06'	18	a:18	a:3
11	<i>A. lenense</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28'/58°10'	3	g:3	g:2

Примечание. № – номер популяции на карте, *N* – объем выборки, *M<sub>h</sub>* – число ПДРФ-гаплотипов, *N<sub>s</sub>* – число секвенированных образцов.

тивный евроазиатский ареал и проявляют себя как облигатный и факультативный гипераккумуляторы никеля соответственно [15]. Третий вид, *A. litvinovii*, является эндемиком Урала [16] и имеет способность к гемиаккумуляции никеля [15]. Таким образом, на данной территории произрастает комплекс морфологически трудно различимых видов, которые никогда не исследовались ранее. Поэтому на начальном этапе исследования необходимо отработать методику молекулярно-генетических исследований для решения вопросов о генетической структуре и динамике ареалов видов *Alyssum* на Урале; о генетическом разнообразии популяций и существовании репродуктивных барьеров между видами.

Цель исследования – оценка эффективности использования маркеров хлоропластной ДНК (хпДНК) для выяснения генетических отношений между видами *A. obovatum*, *A. tortuosum* и *A. litvinovii* на территории Среднего и Южного Урала с особым вниманием к вопросу о происхождении *A. litvinovii*.

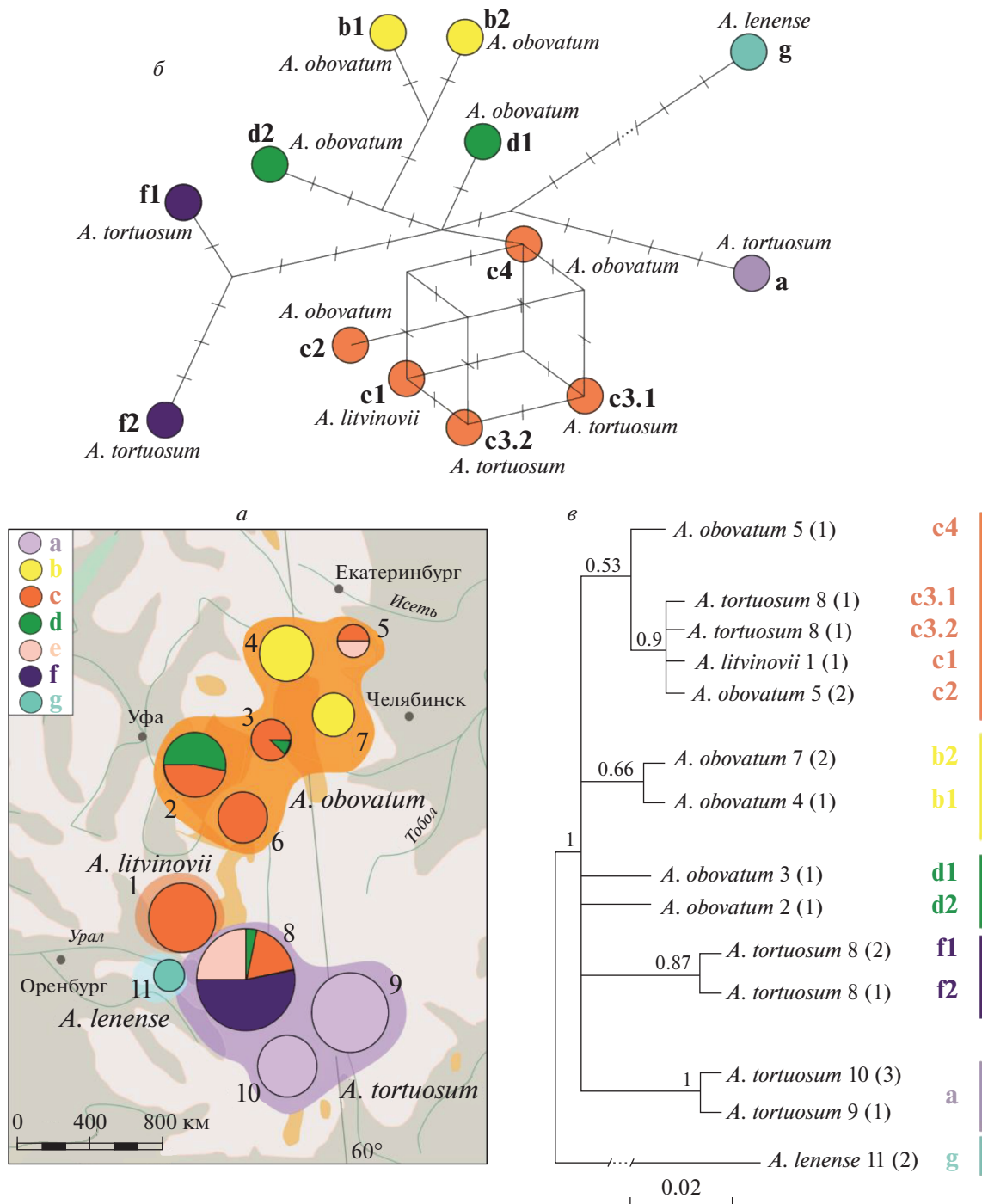
Исследуемые виды: *A. obovatum*, *A. tortuosum* и *A. litvinovii* – многолетники, представители петрофитно-степной флоры; в качестве внешней группы был выбран *A. lenense* Adams из секции *Alyssum* – вид, приуроченный к лесным сообществам. Все исследуемые виды секции *Odontarrhena* имеют перекрывающиеся морфологические характеристики и представляют собой стелющиеся полукустарнички с мелкими листьями, сложными соцветиями и односемянными локулами стручков. *A. obovatum* имеет широчайший для рода естественный ареал распространения: в Евразии – от Восточной Европы до севера Центральной Азии, а также на Северо-Востоке Аме-

рики [10]. *A. tortuosum* распространен в Юго-Восточной Европе, России (Кавказ, Урал, Сибирь). На Урале *A. obovatum* встречается на севере Башкирии, Свердловской и Челябинской областей, а *A. tortuosum* южнее – в Оренбургской и на юге Челябинской области. *A. litvinovii* – редкий вид, известный из единственного местонахождения – гора Дюртель Оренбургской обл. [16]. Ареал *A. lenense* включает Восточную Европу, Россию, Северный Китай. Экологические ниши, занимаемые видами, разнятся: *A. obovatum* встречается на остепненных скалах, каменистых склонах, в петрофитных степях [17]. *A. tortuosum* встречается на выходах известняков, песчаников, в каменистых степях, на щебнистых степных склонах [18]. *A. litvinovii* произрастает на карбонатизированных серпентинитах в единственном локалитете. *A. lenense* встречается на травянистых склонах, в лесах на разных типах пород.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего изучено 148 образцов из районов Южного и Среднего Урала (Оренбургская, Челябинская области, Республика Башкортостан), включающих шесть ценопопуляций *A. obovatum*, три ценопопуляции *A. tortuosum*, одну ценопопуляцию *A. litvinovii* и одну ценопопуляцию *A. lenense*. Список и номера ценопопуляций представлены в табл. 1, их географическое расположение на рис. 1,а; для удобства далее по тексту они будут упоминаться как популяции.

ДНК выделяли по стандартному протоколу для растительных тканей (СТАВ-метод) из свежего материала [19]. При отборе маркеров проводили амплификацию с наиболее часто используемыми в



**Рис. 1.** а – карта местоположения изученных выборок, распределение частот обнаруженных гаплотипов хпДНК, основанное на ПДРФ анализе; размер окружностей пропорционален размеру выборки; популяции одного вида объединены тонирированной областью. б – сеть гаплотипов, построенная на основании последовательностей 20 образцов в программе Network; гаплотипы обозначены цветом и индексом (см. объяснение в тексте); мутации отмечены штрихами (для аутгруппы учтены не все мутации). в – филогенетическое древо, построено с помощью байесовского метода; над ветвями указано значение апостериорной вероятности; латинскими буквами обозначены гаплотипы; цифры соответствуют номерам популяций в табл. 1; в скобках указано количество отсеквенированных образцов.

филогенетических и популяционных исследований фрагментами хпДНК с универсальными праймерами *trnH-trnK*, *trnK1-trnK2*, *psaA-trnS* и *trnC-trnD* [20]; *trnF-trnV* [21], *trnT-trnF* [22], *trnS-trnG* [23]

при температурном профиле, рекомендуемом авторами. Для межгенного спейсера *psbA-trnH* *de novo* были разработаны родоспецифичные праймеры на основе полного хлоропластного генома

*Alyssum desertorum* (номер в GenBank KY498535.1) с использованием онлайн-программы Primer3Web (version 4.1.0) [24]: *psbAa* – GAACGACGG-GAATTGAACC; *trnHa* – TAACCGCGCTA-ACSTTGGTA. Амплификацию проводили при следующих условиях: предварительная денатурация при 94°C 5 мин, в последующих циклах: денатурация 45 с, отжиг праймеров при 60.5°C в течение 1 мин, элонгация при 72°C 2 мин, затем финальная элонгация 10 мин при 72°C. Всего 35 циклов реакции.

Далее продукты амплификации подвергались рестрикции с пятью ферментами: *HaeIII*, *HinfI*, *Kzo9I*, *TaqI*, *Tru9I*. Наиболее изменчивыми хлоропластными фрагментами оказались *trnS-trnG* и *psbAa-trnHa*, позволяющими определить наибольшее количество мутаций. Эти фрагменты в сочетании с перечисленными эндонуклеазами рестрикции использовались для анализа методом ПДРФ (полиморфизм длин рестриктных фрагментов) всех 148 образцов. Для 20 образцов всех четырех видов получены полные нуклеотидные последовательности по этим двум фрагментам с использованием генетического анализатора ABI 3130 (Applied Biosystems, USA). Выравнивание последовательностей проводили вручную в программе BioEdit [25]. Филогенетический анализ проведен только с использованием полных последовательностей байесовским методом в программе MrBayes v.3.1.2 [26] на основе модели нуклеотидных замен GTR + G + I. Инсерции, инверсии и делеции рассматривались как одиночные события и были закодированы в виде бинарной матрицы данных, состоящей из нулей и единиц. Визуализировались консенсус-деревья с помощью программы Fig Tree v1.4.3 [27]. Сеть гаплотипов построена на основании метода Median Joining (MJ) в программе Network v.5.0.0.3 [28].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе отбора маркеров на 24 образцах четырех видов большинство анализируемых фрагментов хпДНК проявили себя как мономорфные, с низкой изменчивостью, либо с нестабильной амплификацией. Высокополиморфными оказались два фрагмента – межгенный спейсер *trnS-trnG* и межгенный спейсер *trnHa-psbAa*. На втором этапе проведен рестриктный анализ (ПДРФ) двух выбранных фрагментов с пятью рестриктазами на всем объеме материала (148 образцов). В результате выявлено семь гаплотипов: **a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** и **g**. По распределению гаплотипов и их частот (рис. 1,а) можно заключить, что изменчивость структурирована географически и не носит строгий видоспецифичный характер. Так, видоспецифичным гаплотипом **a** объединены самые южные популяции *A. tortuosum* (поп. 9 и 10) из Аккермановки и Хабарного; видоспецифичный гап-

тип **b** характерен для северных популяций *A. obovatum* (4 и 7) из Егозы и Карабаша. Однако у всех трех видов секции *Odontarrhena* распространен общий гаплотип **c**, который встретился у *A. tortuosum* в популяции из Новокиевки (8) и у *A. obovatum* сразу в нескольких популяциях – из Вишневогорска (5), Горного воздуха (6), Калкана (3) и Шигаево (2), а локальный эндемик *A. litvinovii* (популяция 1) оказался мономорфным по этому гаплотипу. Гаплотип **d** встретился у обоих видов – у *A. obovatum* из Шигаево (2) и Калкана (3), у *A. tortuosum* в Новокиевке (8). Редкий гаплотип **e** также обнаружен у *A. obovatum* из Вишневогорска (5) и у *A. tortuosum* из Новокиевки (8). Популяция *A. tortuosum* из Новокиевки оказалась самой разнообразной: в нее вошли четыре гаплотипа (**c**, **d**, **e**, **f**), причем большая часть образцов в популяции имела уникальный гаплотип **f**. Образцы *A. lenense* (популяция 11), взятые в качестве внешней группы имеют видоспецифичный гаплотип **g**, далеко отстоящий от остальных (95 мутаций). Таким образом, из семи гаплотипов три являются общими.

Более детальное представление об изменчивости уральских популяций *Alyssum* удалось получить методом секвенирования. Последовательности фрагментов для каждого гаплотипа размещены в Генбанке (GenBank) под номерами доступа (OK329970–OK329993). Длина объединенной последовательности составила 1196 пар нуклеотидов (*trnS-trnG* 1–688 пн; *trnHa-psbAa* 689–1196 пн). В исследованных образцах выявлено большое количество точковых мутаций (87), инделей (34) и небольшое количество инверсий (3). Всего обнаружено 124 изменчивых сайта, из них только 8 парсимонистически информативных. Обнаружена внутривидовая и внутрипопуляционная изменчивость. Таким образом, секвенирование позволило обнаружить большую изменчивость, чем ПДРФ-анализ – количество обнаруженных гаплотипов возросло с 7 до 15. При этом общая картина распределения изменчивости осталась прежней – с ярко выраженной географической структурой, а установленные ранее гаплотипы образовали кластеры близких гаплотипов, отличающихся на 1–3 мутации.

Медианная сеть генеалогических связей между гаплотипами (рис. 1,б) выявила пул из пяти гаплотипов (**c1**, **c2**, **c3.1**, **c3.2** и **c4**), на которые распался гаплотип **c**, общий для образцов из близлежащих популяций Оренбургской и Челябинской областей. Так, на этапе ПДРФ-анализа образцы *A. obovatum* из популяции Горный воздух (6) имели общий с образцами *A. litvinovii* (1) гаплотип **c**. Секвенирование позволило разделить эти образцы на два отдельных гаплотипа: **c1** для *A. litvinovii* и **c2** для *A. obovatum*. У *A. tortuosum* из Новокиевки (8) гаплотип **c** проявил внутрипопуляционную изменчивость, распавшись на **c3.1** и **c3.2**. У *A. obovatum* из Вишневогорска (5) выделился гаплотип **c4**.

Специфичный для *A. tortuosum* гаплотип **a** далее не разделился, а специфичный для *A. obovatum* гаплотип **b** разделился на гаплотипы **b1** Егоза (4) и **b2** Карабаш (7). У *A. obovatum* гаплотип **d** распался на **d1** в Калкане (3) и **d2** в Шигаево (2), у *A. tortuosum* его секвенировать не удалось, также как и гаплотип **e**. В уникальном для *A. tortuosum* гаплотипе **f** выделилось два: **f1** и **f2**. Таким образом, секвенирование нуклеотидных последовательностей позволило углубить представление об изменчивости, существующей в уральских популяциях рода *Alyssum*.

На филогенетическом древе, построенном бэсовым методом (рис. 1, в) выделяются четыре клады, соответствующие основным гаплотипам, детектированным еще на стадии ПДРФ-анализа. С высокой статистической поддержкой (*PPvalue* 0.87–1.00) выделяются клады образцов *A. tortuosum* с видоспецифичными гаплотипами **a** и **f1**, **f2**. Клада пула гаплотипов **c** объединила три вида, в ее пределах субклады соответствуют разным популяциям. Другие клады выделены с меньшими поддержками, однако, с четкой структурой по региону в пределах Урала и содержат по одному виду.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдаемая картина соответствует ситуации, когда предполагаемые виды еще не обрели репродуктивную изоляцию, активно образуют гибриды и связаны существенным генетическим потоком. Исследователи [29] склонны рассматривать современный ареал распространения видов из секции *Odontarrhena* как следствие феномена быстрой экспансии видов после эпохи оледенения, поэтому можно предполагать, что в данной таксономической группе в настоящий момент идет постепенная фиксация предкового полиморфизма [30–32]. По этой причине уральские виды, хотя уже и имеют специфичные гаплотипы (**a**, **b**, **f**), но благодаря неполному “lineage sorting” у разных видов с высокой частотой встречаются общие или близкие варианты гаплотипов. В дальнейшем редкие варианты могут быть утеряны, а в пределах подгруппы близких гаплотипов может накопиться значительное количество мутаций, что приведет к закреплению специфичных для видов хлоропластных линий. Например, в группе гаплотипов **c** уже заметно обособление хлоропластных вариантов: гаплотипы **c1**, **c2** и **c3** соответствуют трем видам — *A. litvinovii*, *A. obovatum*, *A. tortuosum*. Особое внимание нужно уделить уральскому эндемику *A. litvinovii*. Наличие у него варианта гаплотипа из группы **c**, объединяющей все три вида, свидетельствует о недавнем происхождении и близком родстве с двумя другими видами. Однако на данном этапе невозможно сделать заключение, действительно ли этот вид обладает сниженной изменчивостью или это объясняется малым количеством исследован-

ных образцов (всего 17). Интересная особенность *A. litvinovii* заключается в его повышенной ploидности [А.Ю. Тептина, неопубл.], что позволяет предполагать гибридную природу происхождения этого вида — обычное явление для рода *Alyssum* [33].

В целом, выявленная в настоящей работе картина распределения изменчивости согласуется с данными, полученными ранее для европейских видов *Alyssum*. В ряде работ [29, 34–36] использование различных типов маркеров (хлоропластной ДНК, ядерной — ITS-маркеры, или мультилокусный анализ) не дает филогении, которая бы согласовалась с классическим таксономическим видовым делением. Часто виды с небольшими ареалами или эндемики оказываются внутри клад широкоареальных видов на уровне межпопуляционной внутривидовой дифференциации.

Представители семейства Крестоцветные часто входят в состав флор, сформировавшихся на почвах с высоким содержанием тяжелых металлов. При этом у растений, произрастающих на таких почвах, наблюдается повышенное генетическое разнообразие [6, 37, 38]. Непосредственно связь между генетическим разнообразием растений и содержанием тяжелых металлов в почве или способностью их накопления в частях растений была изучена только для нескольких видов секции *Odontarrhena* — итальянского *A. bertolonii* и двух видов с северного Кавказа — *A. murale* и *A. daghestanicum* [5, 6]. Так, для *A. bertolonii* показана положительная корреляция между варьированием содержания Ni в почве и величиной показателя генетического разнообразия популяции по маркерам микросателлитов хДНК [38]. Популяционный полиморфизм *A. murale* по ITS-маркеру разрешил изученные образцы соответственно их аккумулялирующей способности к Ni. Авторы показали, что гипераккумулярующая и негипераккумулярующая популяции вида *A. murale* генетически различаются (пятью мутациями и 16 полиморфными сайтами), в то время как другой вид, *A. daghestanicum*, не гипераккумулятор, оказался генетически мономорфным [6]. В описанные закономерности укладывается и выявленная в данном исследовании изменчивость уральских видов: способные к облигатной или факультативной аккумуляции виды *A. obovatum* и *A. tortuosum* оказались более изменчивыми, чем гемиаккумулятор *A. litvinovii*. Однако данные по изменчивости маркеров хлоропластной ДНК могут лишь косвенно отражать адаптационные возможности видов. Для выявления подобных закономерностей более подходящим будет использование мультилокусных ядерных маркеров. Например, на видах секции *Odontarrhena* в Албании [36] было показано различие между видами, облигатно произрастающими на серпентинитах и на других типах почв по количеству “outlier”-локусов, т.е. локусов выходящих за рамки распределения изменчивости при условии их

нейтральности, а следовательно потенциально сцепленных с адаптационными признаками.

В ходе работы отобраны маркеры хпДНК, перспективные для выявления общей пространственно-генетической структуры исследуемых видов. Установлено близкое родство всех трех видов, генетическое разнообразие и наличие специфичных для видов *A. obovatum* и *A. tortuosum* гаплотипов, отсутствие генетического разнообразия у *A. litvinovii*. Увеличение выборки растений, больший территориальный охват их сбора и привлечение новых маркеров поможет составить более полное представление о филогении исследуемых видов. Относительно применения маркеров хпДНК можно говорить об эффективности их использования только при анализе методом секвенирования, выявляющим весь диапазон изменчивости. Несмотря на то, что ПДРФ-метод имеет преимущество за счет более низкой стоимости, в большинстве случаев он подходит для популяционных исследований только в качестве предварительной оценки генетической изменчивости и ее структуры.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН № 122021000090-5, проведение молекулярно-генетического анализа поддержано грантом РФФИ № 16-04-01346.

Благодарим лабораторию молекулярной генетики ИЕИМ за помощь в проведении си-квенсного анализа.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D. et al. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction // *Plant and Soil*. 2013. V. 362. № 1. P. 319–334. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>
2. Krämer U. Metal hyperaccumulation in plants // *Annual Review of Plant Biol.* 2010. V. 61. P. 517–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
3. Reeves R.D. Hyperaccumulation of trace elements by plants // *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*. 2005. V. 68. P. 25–52.
4. Warwick S.I., Francis A., Gugel R.K. Guide to wild germplasm: *Brassica* and allied crops (tribe Brassiceae, Brassicaceae) Ottawa: Agriculture Agri-Food Research Canada, 2009. 19 p. <http://www.brassica.info/info/publications/guide-wild-germplasm.php>
5. Galardi F., Mengoni A., Pucci S. et al. Intra-specific differences in mineral element composition in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*: A survey of populations in nature // *Environmental and Exp. Botany*. 2007b. V. 60. № 1. P. 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.06.010>
6. Drozdova I.V., Machs E., Kalimova I. et al. Accumulation of potentially toxic elements by plants of North Caucasian *Alyssum* species and their molecular phylogenetic analysis // *Environ Geochem. Health*. 2021. V. 43. № 4. P. 1617–1628. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00674-4>
7. Španiel S., Marhold K., Filová B., Zozomová-Lihová J. Genetic and morphological variation in the diploid-polyploid *Alyssum montanum* in Central Europe: taxonomic and evolutionary considerations // *Plant Syst. and Evol.* 2011. V. 294. № 1. P. 24–27. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0438-y>
8. Španiel S., Kempa M., Salmerón-Sánchez E. et al. Aly-Base: Database of names, chromosome numbers, and ploidy levels of Alyseae (Brassicaceae), with a new generic concept of the tribe // *Plant Systematics and Evolution*. 2015. V. 301. № 10. P. 2463–2491. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1257-3>
9. Zozomová-Lihová J., Melichárková A., Svitok M., Španiel S. Pleistocene range disruption and postglacial expansion with secondary contacts explain the genetic and cytotype structure in the western Balkan endemic *Alyssum austrodalmaticum* (Brassicaceae) // *Plant Syst. and Evol.* 2020. V. 306. № 2. P. 1–25. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01677-5>
10. German D.A. (2058) Proposal to conserve *Odontarrhena obovatum* (*Alyssum obovatum*), nom. cons. prop., against *Alyssum fischerianum* (Cruciferae) // *Taxon*. 2012a. V. 61. № 2. P. 470. <https://doi.org/10.1002/tax.612023>
11. Буш Н.А. Cruciferae // Флора Сибири и Дальнего Востока. 1913. Т. 1. № 34. С. 491–714.
12. Толмачёв А.И. Сем. Cruciferae Juss. — Крестоцветные // Флора Забайкалья. 1949. № 5. С. 419–471.
13. Nyárády E.J. Synopsis specierum, variationum et formarum sectionis *Odontarrhenae* generis *Alyssum* // *Anal. Acad. Rep. Pop. Române*. 1949. Ser. A. V. 1. Mem. 3. P. 67–199.
14. German D.A. Taxonomical confusions in the Cruciferae of North and Central Asia. I. *Alyssum fischerianum* and *Alyssum canescens* // *Turczaninowia*. 2011b. V. 14. № 4. P. 18–28.
15. Teptina A.Y., Paukov A.G. Nickel accumulation by species of *Alyssum* and *Noccaea* (Brassicaceae) from ultra-traffic soils in the Urals, Russia // *Austr. J. Botany*. 2015. V. 63. № 2. P. 78–84. <https://doi.org/10.1071/bt14265>
16. Князев М.С. Заметки о некоторых видах крестоцветных (Brassicaceae) на Урале и сопредельных территориях // *Новости сист. высш. растений*. 2011. Т. 42. С. 136–146.
17. Горчаковский П.Л., Шурова Е.А., Князев М.С. и др. Определитель сосудистых растений Среднего Урала. М.: Наука, 1994. 525 с.
18. Рябинина З.Н., Князев М.С. Определитель сосудистых растений Оренбургской области. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 758 с.
19. 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. P. 673–679. <https://doi.org/10.1007/BF00226088>
20. Demesure B., Sodji N., Petit R.J. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants // *Mol. Ecol.* 1995. V. 4. № 1. P. 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1995.tb00201.x>

21. Dumolin-Lapegue S., Pemonge M.H., Petit R.J. An enlarged set of consensus primers for the study of organellar DNA in plants // *Mol. Ecol.* 1997. V. 6. № 4. P. 393–397.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1997.00193.x>
22. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // *Plant Mol. Biol.* 1991. V. 17. № 5. P. 1105–1109.  
<https://doi.org/10.1007/BF00037152>
23. Shaw J., Lickey E.B., Beck J.T. et al. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis // *Am. J. Botany.* 2005. V. 92. № 1. P. 142–166.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
24. Rozen S., Skaletsky H.J. Primer 3 on the WWW for general users and for biologist programmers // *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology.* N.J.: Humana Press, 2000. P. 365–386.
25. Hall T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids Symp. Ser.* 1999. V. 41. P. 95–98.  
<https://doi.org/10.1111/jbi.12867>
26. 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>
27. Rambaut A. FigTree v1.3.1: Tree figure drawing tool // *Mol. Evol., Phylogen. and Epidem.* 2009. <http://tree.bio.ed.ac.uk>
28. Bandelt H.J., Forster P., Rohlf A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
29. Mengoni A., Baker A.J.M., Bazzicalupo M. et al. Evolutionary dynamics of nickel hyperaccumulation in *Alyssum* revealed by ITS nrDNA analysis // *New Phytologist.* 2003. V. 159. № 3. P. 691–699.  
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00837.x>
30. Maddison W.P. Gene trees in species trees // *Systematic Biology.* 1997. V. 46. № 3. P. 523–536.  
<https://doi.org/10.1093/sysbio/46.3.523>
31. Flagel L., Udall J., Nettleton D., Wendel J. Duplicate gene expression in allopolyploid *Gossypium* reveals two temporally distinct phases of expression evolution // *BMC Biology.* 2008. V. 6. № 1. P. 16–19.  
<https://doi.org/10.1186/1741-7007-6-16>
32. Gurushidze M., Fritsch R.M., Blattner F.R. Species-level phylogeny of *Allium* subgenus *Melanocrommyum*: Incomplete lineage sorting, hybridization and *trnF* gene duplication // *Taxon.* 2010. V. 59. № 3. P. 829–840.  
<https://doi.org/10.1002/tax.593012>
33. Warwick S.I., Al-Shehbaz I.A. Brassicaceae: chromosome number index and database on CD-Rom // *Plant Syst. and Evol.* 2006. V. 259. № 2. P. 237–248.  
<https://doi.org/10.1007/s00606-006-0421-1>
34. Li Y., Kong Y., Zhang Z. et al. Phylogeny and biogeography of *Alyssum* (Brassicaceae) based on nuclear ribosomal ITS DNA sequences // *J. Genet.* 2014. V. 93. № 2. P. 313–323.  
<https://doi.org/10.1007/s12041-014-0362-3>
35. Zozomová-Lihová J., Marhold K., Španiel S. Taxonomy and evolutionary history of *Alyssum montanum* (Brassicaceae) and related taxa in southwestern Europe and Morocco: Diversification driven by polyploidy, geographic and ecological isolation // *Taxon.* 2014. V. 63. № 3. P. 562–591.  
<https://doi.org/10.12705/633.18>
36. Coppi A., Baker A.J., Bettarini I. et al. Population genetics of *Odontarrhena* (Brassicaceae) from Albania: The effects of anthropic habitat disturbance, soil, and altitude on a Ni-Hyperaccumulator plant group from a major serpentine hotspot // *Plants.* 2020. V. 9. № 12. P. 1686.  
<https://doi.org/10.3390/plants9121686>
37. Федоренко О.М., Зарецкая М.В., Лебедева О.Н., Туттов А.Ф. Генетическое разнообразие природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.), расположенных на северной периферии ареала вида // Тр. Карельского науч. центра РАН. 2014. № 2. С. 36–42.
38. Galardi F., Corrales I., Mengoni A. et al. Intra-specific differences in nickel tolerance and accumulation in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii* // *Envir. and Exp. Botany.* 2007a. V. 60. № 3. P. 377–384.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.12.011>

## Genetic Structure of the Ni-Accumulating *Alyssum* L. Species (*Odontarrhena*) in the Urals

D. R. Iunusova<sup>a, \*</sup>, A. Yu. Teptina<sup>b</sup>, V. L. Semerikov<sup>a</sup>, and M. A. Polezhaeva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia*

<sup>b</sup>*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, 620002 Russia*

\*e-mail: dianaiunusova@mail.ru

A species-level phylogeny of the *Odontarrhena* section in the Urals was estimated for the first time. *Alyssum obovatum* (C.A. Mey.) Turcz., *A. tortuosum* Willd. and *A. litvinovii* Knjaz. are known for their heavy metal hemi- and hyperaccumulating ability. A total of 15 haplotypes were found based on the genetic diversity of the two chloroplast DNA markers. There are only a few species-specific haplotypes observed in the *A. obovatum* and *A. tortuosum* populations, while geographically close populations of both species share the most part of closely related haplotypes. Thus, the species form a geographically structured pattern of haplotype distribution. The Ural endemic *A. litvinovii* turned out to be monomorphic and genetically close to the other species.

**Keywords:** genetic diversity, cDNA, Urals, hyperaccumulation, *Alyssum*, *trnS-trnG*, *trnH-psbA*.