

Теоретичні та прикладні питання

Подібність *Betula borysthena* Клоков з внутрішньовидовими таксонами *Betula pubescens* Ehrh.

АНДРІЙ СЕРГІЙОВИЧ ТАРЕЄВ
ВІКТОРІЯ РОСТИСЛАВІВНА БОЙКО
ІВАН ІВАНОВИЧ МОЙСІЄНКО
ІГОР ЮРІЙОВИЧ КОСТИКОВ

ТАРЕЄВ А.С., БОЙКО В.Р., МОЙСІЄНКО І.І., КОСТИКОВ І.Ю. (2013). **Подібність *Betula borysthena* Клоков з внутрішньовидовими таксонами *Betula pubescens* Ehrh.** *Чорноморськ. бот. ж.*, 9 (2): 158-169.

У статті наведені нові дані щодо систематичного положення занесеного до Червоної книги України ендемічного виду *Betula borysthena* Клоков, отримані за допомогою хемосистематичних, морфологічних та молекулярно-генетичних методів дослідження. Базуючись на результатах гель-електрофорезу запасних водорозчинних білків-глобулінів насіння та морфології проростків показано певну відокремленість *B. borysthena* від інших таксонів. Застосування двох генетичних маркерів – некодуєчої послідовності спейсеру ITS1 рибосомального кластеру генів ядерного геному та фрагменту послідовності пластидного гену *rbcL*, що зазвичай використовуються для ДНК-штрихкодування не виявило достатніх відмін для достовірного розмежування таксонів. Дискусія щодо статусу *B. borysthena* наразі продовжується.

Ключові слова: *Betulaceae*, *Betula borysthena*, систематика рослин, хемосистематика, морфологія, молекулярна таксономія, гель-електрофорез, ендемічні види, Україна

TARIEIEV A.S., BOJKO V.R., MOYSIYENKO I.I., KOSTIKOV I.YU. (2013). **Similarity of *Betula borysthena* Klokov with intraspecific taxa of *Betula pubescens* Ehrh.** *Chornomors'k bot. z.*, 9 (2): 158-169.

The article is on the new data about taxonomical status of the endemic species *Betula borysthena* Klokov, which is listed in The Red Book of Ukraine. The data were obtained by chemotaxonomic, morphological and molecular genetic approaches. Based on the results of gel-electrophoresis of soluble seed storage proteins and morphology of seedlings some isolation of *B. borysthena* from other taxa are shown. The application of two genetic markers – noncoding spacer sequence of ITS1 from nuclear genome and partial sequence of plastid gene *rbcL*, which are usually used for DNA-barcoding, showed no significant differences for distinguishing different taxa. The taxonomical status of *B. borysthena* remains under discussion now.

Key words: *Betulaceae*, *Betula borysthena*, plant systematics, chemosystematics, morphology, molecular taxonomy, gel-electrophoresis, endemic species, Ukraine

ТАРЕЄВ А.С., БОЙКО В.Р., МОЙСІЄНКО І.І., КОСТИКОВ І.Ю. (2013). **Подобность *Betula borysthena* Клоков с внутривидовыми таксонами *Betula pubescens* Ehrh.** *Черноморск. бот. ж.*, 9 (2): 158-169.

В статье приведены новые данные относительно систематического положения занесенного в Красную книгу Украины эндемичного вида *Betula borysthena* Klokov, полученные при помощи хемотаксономических, морфологических и молекулярно-генетических подходов. Основываясь на результатах гель-электрофореза запасных водорастворимых белков-глобулинов семян и морфологии проростков показано некоторую обособленность *B. borysthena* от

других таксонов. Применение двух генетических маркеров – некодирующей последовательности спейсера ITS1 рибосомального кластера генів и фрагмента последовательности пластидного гена *rbcL*, которые обычно применяются для ДНК-штрихкодирования, не выявило значимых отличий, достаточных для достоверного разграничения таксонов. Таксономический статус *B. borysthena*, обсуждается.

Ключевые слова: *Betulaceae*, *Betula borysthena*, систематика растений, хемосистематика, морфология, молекулярная таксономия, гель-электрофорез, эндемичные виды, Украина

Betula borysthena Klokov представляє рідкісний вид, який включено до II та III видання Червоної книги України [CHERVONA...1996, 2009], а угруповання за його участю – до I та II видань Зеленої книги України [ZELENA...1987, 2009]. Береза дніпровська є ендеміком степової зони Східної Європи, причому більша частина її ареалу розташована на території України, переважно на півдні: у пониззях Південного Бугу та Дніпра [ВОЙКО et al., 2005]. Локалітети *B. borysthena* зареєстровані також в околицях міст Запоріжжя та Кременчука. На сході цей вид зустрічається на пісках р. Сіверський Донець. За межами України береза дніпровська поширена на піщаних аренах р. Дон (переважно в її гирловій частині), а також у псамфітних ценозах р. Єруслан у Саратовській області [КЛОКОВ, 1946, 1979].

Раритетні дніпровськоберезові ліси поширені у піщаному степу і здебільшого фрагментовані на невеликі гайки (колки), розташовані у котловинах видування. Ці ліси охороняються на території Чорноморського біосферного заповідника [КАТАЛОГ..., 2002], новостворених національних природних парків «Олешківські піски» та «Білобережжя Святослава», регіонального ландшафтного парку «Кінбурнська коса», ландшафтного заказника «Саги» та лісового заказника «Березові колки».

Високий соціологічний статус *B. borysthena* пов'язаний зі скороченням чисельності її локальних популяцій, яке відбувається в основному внаслідок освоєння пісків нижньої течії Дніпра і, зокрема, створення соснових насаджень. На сьогодні постає питання про доцільність встановлення контролю за станом популяцій, створення заказників у місцях зростання берези дніпровської (особливо поза межами нижньодніпровських пісків) та збереження даного виду в ботанічних садах [ZELENA ... 1987, 2002, 2009; CHERVONA... 1996, 2009; КОТЕНКО et al., 1999].

Типовим локалітетом *B. borysthena* є Нижньодніпровські борові піски. У XVIII-XIX ст. березу, що зростала на піщаних аренах в пониззі Дніпра, помилково визначали як *Betula verrucosa* Ehrh. [LEDEBOUR, 1847-1849; SREDNINSKIY, 1872-1873]. У 1915 р. Й.К. Пачоський відніс цю березу до *Betula pubescens* Ehrh.¹ [РАСНОСКИY, 1915]. Він також вперше висловив думку, що береза з пониззя Дніпра є окремим таксоном: «Ближе всего эта форма подходит к var. *glabra* Fick. Однако эта последняя в западной Европе попадает довольно редко и, по-видимому, не имеет своего собственного ареала, почему можно усомниться в ее расовом значении. Наоборот, у нас гладколистая пушистая береза, по-видимому, является расой, так как занимает совершенно определенный ареал» [РАСНОСКИY, 1915]. У 1927 р. В.М. Андреев визначив березу дніпровську як раніше описаний з території Європи різновид *Betula pubescens* var. *glabra* Fick f. *ovata* С.К. Schnied. [ANDREEV, 1928-1929]. У 1946 році М.В. Клоковим береза з пониззя Дніпра була виділена в окремий вид *B. borysthena* Klokov [КЛОКОВ, 1946], причому голотипом слугував зразок, ідентифікований В.М. Андреевим як *Betula pubescens* var. *glabra* f. *ovata* (цей зразок за номером 006415 зберігається в Національному гербарії України (KW)).

¹ Й.К. Пачоський присвятив даній березі окрему роботу «Пушистая береза на крайнем юге степной области», однак вона була втрачена при пересиланні до Санкт-Петербургу.

Береза дніпровська, за М.М. Цвельовим, належить до критичної у систематичному відношенні групи видів *Betula* aggr. *pubescens* Ehrh. [TSVELEV, 2002]. Дана група видів має значний ареал, що охоплює Європу, північну та центральну частини Азії, значну частину Північної Америки та характеризується високим адаптивним поліморфізмом.

В межах групи *Betula* aggr. *pubescens* Ehrh. *B. borysthena* представляє один з видів, який вважається або одним із синонімів великого за обсягом таксону *B. pubescens* Ehrh. var. *glabrata* Wahlenb. (Catalogue of Life: 2008 Annual Checklist, Kew, <http://www.catalogueoflife.org>), або синонімом *B. pubescens* Ehrh. ssp. *tortuosa* (Ledebour) Nyman [FLORA..., 1993].

B. borysthena провізорно віднесена до синонімів *B. pubescens* var. *glabrata* на основі молекулярно-філогенетичних реконструкцій філогенетичних відносин різних таксонів роду *Betula*, які були виконані за послідовностями пластидного гену *matK* [JÄRVINEN et al., 2004], оцінками поліморфізму довжини ампліфікованих фрагментів геномної ДНК [SCHENK et al., 2008], а також за методикою ДНК штрих-кодування фрагментів пластидних генів *matK* та *rbcL* [CRÄUTLEIN et al., 2011]. Ці реконструкції в цілому підтвердили обґрунтованість запропонованої П.С. Де Йонгом [DE JONG, 1993] системи підродів *Betula*, але роздільна здатність апробованих методів для розв'язання питань видової та внутрішньовидової таксономії даного роду була визнана недостатньою.

До жодного з молекулярно-філогенетичних досліджень *B. borysthena* залучена не була.

Віднесення *B. borysthena* до синонімів *B. pubescens* var. *tortuosa* запропоновано російськими ботаніками на підставі значної морфологічної схожості цих таксонів та їх тяжіння до зростання у псамофітних фітоценозах [MAGNOLIPDAE..., 1997; МОЙСІЄНКО, 2007]. При цьому наявним фенотипним відмінам берези дніпровської (опушення листків та молодих гілочок, інша форма приквіткових лусок) [FLORA..., 1935; КЛОКОВ, 1946; FLORA URSSR ... , 1952] таксономічної ваги не надається [FLORA ..., 1993].

Таким чином, висновок щодо статусу *B. borysthena* має врахувати три позиції:

1. Експериментальні дані (зокрема, молекулярні) для визначення місця *B. borysthena* у системі відсутні, за винятком морфологічної характеристики, наведеної в первинному описі;

2. Наявні молекулярно-філогенетичні дані при розв'язанні задачі щодо статусу берези дніпровської дозволяють спиратися на систему внутрішньовидових таксонів *B. pubescens*, наведених у Catalogue of Life: 2012 Annual Checklist, за якою *B. pubescens* включає чотири різновиди: *B. pubescens* var. *pubescens*, *B. pubescens* var. *glabrata* (incl. *B. borysthena*, *B. pubescens* ssp. *carpatica*), *B. pubescens* var. *pumila* (incl. *B. pubescens* ssp. *tortuosa*), *B. pubescens* var. *golitsinii*.

3. В межах цієї системи існує два варіанти розв'язання статусу берези дніпровської: а) справедливою є точка зору Govaerts et al. 1998, і тоді, за системою Catalogue of Life: 2012 Annual Checklist (<http://www.catalogueoflife.org/>), *B. borysthena* є молодшим синонімом *B. pubescens* var. *glabrata*, як це пропонує Catalogue of Life: 2012 Annual Checklist (<http://www.catalogueoflife.org/>); б) справедливою є точка зору, викладена у Флорі Європи, 1993, і тоді, за системою Catalogue of Life: 2012 Annual Checklist (<http://www.catalogueoflife.org/>) *B. borysthena* має бути вилучена з числа молодших синонімів *B. pubescens* var. *glabrata* і включена до числа молодших синонімів *B. pubescens* var. *pumila*. Крім того, відкритим залишається третій варіант, а саме, *B. borysthena* представляє таксон якогось іншого статусу, відмінний як від *B. pubescens* var. *glabrata*, так і від *B. pubescens* var. *pumila*.

Матеріали та методи

Матеріалом слугували зразки насіння *Betula borysthena* з 5-и локалітетів (включаючи локалітет з Чалбаської арени, в якому був зібраний номенклатурний тип виду) та близьких до неї *B. pubescens* (4 локалітети) та *B. pubescens* ssp. *tortuosa* (1 локалітет, зібраний поблизу місця відбору номенклатурного типу різновиду у Голандії), до яких береза дніпровська деякими авторами (див. вище) включається як молодший синонім (табл. 1.). Спектр запасних глобулінів визначали також в насінні з трьох локалітетів *B. pendula*, яка представляла водночас зовнішню групу та номенклатурний тип роду.

Таблиця 1

Коротка характеристика місць та дат збору матеріалу

Table 1

Short characteristics of places and dates of material gathering

№	Видова назва	Місце збору	Дата збору
1	<i>B. borysthena</i>	Херсонська обл., Цюрупинський р-н, окол. зал. ст. Цюрупинськ (2 км), березовий гайок, оточений сосновими насадженнями	07.10.07
2	<i>B. borysthena</i>	Миколаївська обл., Жовтневий р-н. Нижньодніпровські піски, околиці Голагалівки, молодий березово-осиковий гайок	12.10.07
3	<i>B. borysthena</i>	Миколаївська обл., Очаківський р-н, Геройське × Покровка, березовий гайок ближче до Геройського	14.10.07
4	<i>B. borysthena</i>	Херсонська обл., Голопристанський р-н, окол. с. Буркути (2 км), Нижньодніпровські піски, Чалбаська арена, березові гайки серед кучугур (типовий локалітет)	10.11.07
5	<i>B. borysthena</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 3 км на SW. Осоково-сфагнове болото	24.11.07
6	<i>B. pendula</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 2 км на SW. Урочище Порости	24.11.07
7	<i>B. pendula</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 2 км на SW. Урочище Порости	24.11.07
8	<i>B. pendula</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 2 км на SW. Урочище Порости	24.11.07
9	<i>B. pubescens</i> var. <i>tortuosa</i>	Netherland, Amerland island, depression between gray dunas	26.08.06
10	<i>B. pubescens</i>	Netherland, Ameland island, depression between gray dunas	26.08.06
11	<i>B. pubescens</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 3 км на SW. Осоково-сфагнове болото	24.11.07
12	<i>B. pubescens</i>	Київська обл., Іванківський р-н, окол. с. Жерепілля 3 км на SW. Осоково-сфагнове болото	24.11.07

Спектри глобулінів насіння визначали на основі методу денатуруючого білкового гель-електрофорезу за Леммлі [LAEMMLI, 1970; METHODY..., 1978; OSTERMAN, 1981; GAAL et al., 1982; HOLTZHAUER, 2006]. Для цього 200 мг насіння з кожного локалітету подрібнювали до порошкоподібного стану, водорозчинну фракцію білку екстрагували за допомогою електродного буферу (Tris base – 2,7 г, гліцин – 12,96 г; додецилсульфат Na – 0,9 г; H₂O – до 1000 мл) протягом доби, з екстракту після центрифугування (10 хв. при 8,661kg.) відбирали супернатант. Після визначення у супернатанті концентрації білку за методом Бредфорда [BRADFORD, 1972] та розведення його електродним буфером до робочої концентрації 0,7 мг/мл отримані проби фракціонували за допомогою електрофорезу у 14% поліакриламідному гелі при робочій напрузі 400 В. Як маркер застосовували розчин бичачого сироваткового альбуміну (SERVA) з

молекулярною масою 40 кДа у такій самій концентрації, як і в отриманих з насіння зразках. Спектри глобулінів визначали в усіх зразках одночасно, в одному гелі. Повторність досліду чотирикратно.

Для встановлення відношень між таксонами нами було проведено ампліфікацію двох нуклеотидних послідовностей – частини пластидного гену *rbcL* з праймерами *rbcLa_F*, *rbcLa_R* та внутрішнього спейсеру, що транскрибується – ITS 1 з ядерного геному, які далі було секвеновано.

Таблиця 2

Використані праймери

Table 2

Used primers

Назва праймера	Послідовність
P1	5'-AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3'
P2	5'-GATGCGAGAGCCGAGATATCCGTTG-3'
<i>rbcLa_f</i>	5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3'
<i>rbcLa_r</i>	5'-GTAATAATCAAGTCCACCRCG-3'

Результати та обговорення

Особливості спектру запасних білків

В результаті було отримано спектри водорозчинних білків насіння берез з усіх локалітетів (рис. 1), за винятком локалітету (дор. 4) *B. borysthenica* та (дор. 10) *B. pubescens* ssp. *pubescens*. Берези з цих локалітетів з подальшого аналізу були виключені. Інтенсивність прояву фракцій на різних доріжках була дещо відмінна, що може бути пов'язано з різними кількісними співвідношеннями глобулінів у насінні з різних локальних популяцій.

Загалом у дослідженій вибірці було виявлено 12 фракцій (рис.1), з яких 4 фракції (2, 5, 11, 12) віднесені до мажорних, решта – до мінорних. Мажорні фракції в межах одного таксону були представлені у зразках з усіх локалітетів. З них фракції 2, 11 та 12 були притаманні всім видам, фракція 5 – лише таксонам з групи *B. pubescens*. Склад мінорних фракцій також виявився сталим в межах одного таксону, за винятком фракцій 7 та 9, наявність яких була неоднозначною на доріжках з слабким забарвленням мажорних фракцій (а саме на доріжках 6 та 12).

Таким чином, без урахування локалітетів (дор. 4 та дор. 10) та фракцій 7 та 9 з неоднозначним виявленням на доріжках 6 та 12, спектри глобулінів виявились таксон-специфічними.

Спектр *B. borysthenica* включав 11 фракцій. Серед них мінорні фракції 1 та 4 в межах вибірки були унікальними лише для берези дніпровської. П'ять фракцій (3, 5, 7-9) виявились специфічними для групи видів *B. pubescens* (*B. borysthenica* та обох різновидів *B. pubescens*). При цьому різновиди берези пухнастої розрізнялися лише за фракцією 10, яка була наявна у *B. pubescens* ssp. *tortuosa* і відсутня у типового різновиду. Чотири фракції (2, 6, 11, 12) виявились неспецифічними і були притаманні всім дослідженим видам берез.

Оскільки *B. borysthenica* та *B. pubescens* var. *tortuosa*, відрізняються трьома білковими фракціями, *B. borysthenica* та *B. pubescens* var. *pubescens* – двома, між собою *B. pubescens* var. *pubescens* та *B. pubescens* var. *tortuosa* відрізняються однією фракцією, тому *B. borysthenica* є більш віддаленою від *B. pubescens* ssp. *tortuosa*, ніж від типового різновиду *B. pubescens*; два порівнювані різновиди берези пухнастої виявились більш близькими між собою, ніж до *B. borysthenica*.

Отримані результати дають підстави стверджувати, що *B. borysthenica*, *B. pubescens* ssp. *pubescens* та *B. pubescens* ssp. *tortuosa* є відмінними, хоча і близько спорідненими таксонами.

Особливості проростків та листкової пластинки дорослих особин

У *B. borysthena* спостерігається виражене накопичення антоціанів в гіпокотилі проростку, через що він має темно-рожеве забарвлення (рис.3). У обох різновидів *B. pubescens* гіпокотиль забарвлений у злегка рожевуватий колір. У *B. pendula*, яка представляє зовнішню групу, накопичення антоціанів не спостерігається. За рештою морфологічних ознак (включаючи опушення проростків та форму їх сім'ядольних листків) відміни між видами, що порівнюються, відсутні.

Пізніше, починаючи з іматурного вікового стану, види добре різняться за опушенням та формою листкової пластинки. Так, у *B. borysthena* опушення слабке, а листкова пластинка округла, тоді як у обох різновидів *B. pubescens* опушення сильно виражене; листкова пластинка у типового різновиду клиновидна, у *B. pubescens* ssp. *tortuosa* – серцеподібна (рис.4).

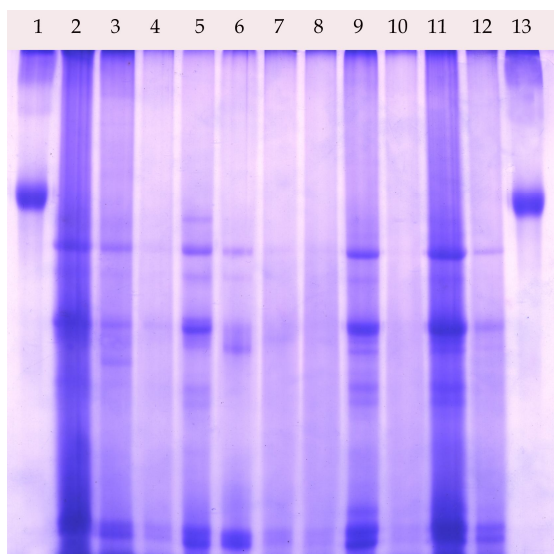


Рис. 1. Схема розподілу білкових фракцій деяких таксонів роду *Betula*: 2-6 – *B. borysthena*; 7,8 – *B. pendula*; 9 – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; 10-12 – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; 1, 13 – маркерний білок (БСА).

Fig. 1. The scheme of protein fractions distribution in some taxa of genus *Betula*: 2-6 – *B. borysthena*; 7,8 – *B. pendula*; 9 – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; 10-12 – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; 1, 13 – маркерний білок (БСА).

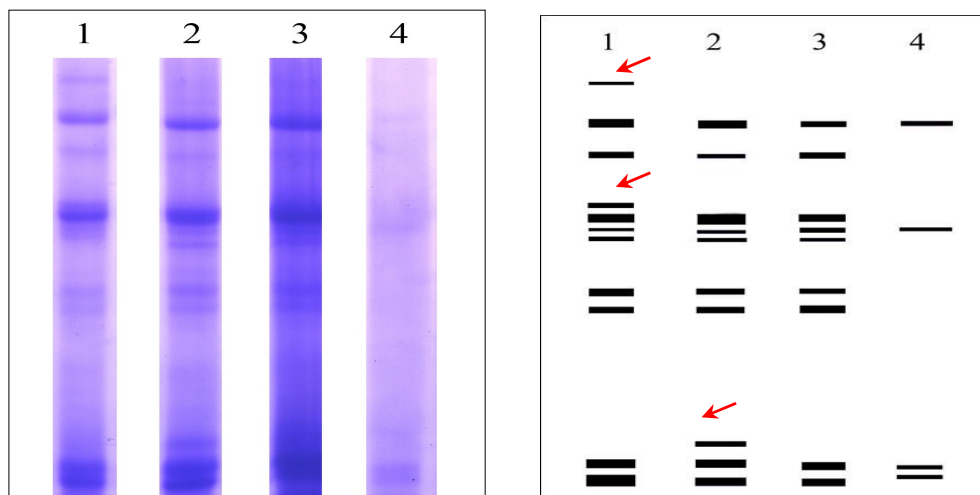


Рис. 2. Схема розподілу білкових фракцій деяких таксонів роду *Betula*: 1 – *B. borysthena*; 2 – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; 3 – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; 4 – *B. pendula*. Стрілками показано унікальні фракції для кожного з видів (при наявності).

Fig. 2. The scheme of protein fractions distribution in some taxa of genus *Betula*: 1 – *B. borysthena*; 2 – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; 3 – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; 4 – *B. pendula*. The arrow shows the unique fractions for each species (if any).



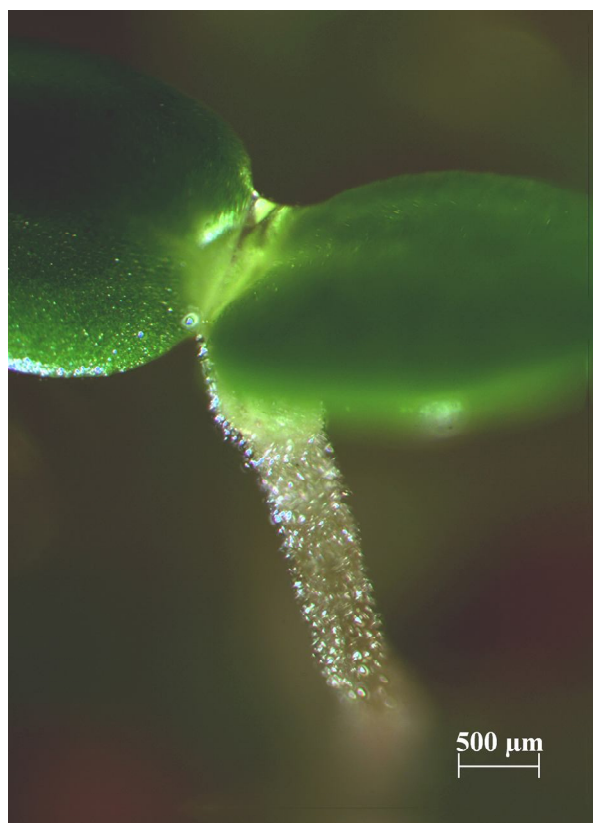
А



Б



В



Г

Рис. 3. Проростки різних видів роду *Betula*:

А – *B. borysthena*; Б – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; В – *B. pubescens* var. *pubescens*; Г – *B. pendula*.

Fig. 3. Seedlings of different species of genus *Betula*:

А – *B. borysthena*; Б – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; В – *B. pubescens* var. *pubescens*; Г – *B. pendula*.



А



Б



В



Г

Рис. 4. Листкові пластинки різних видів роду *Betula*:
А – *B. borysthena*; Б – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; В – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; Г – *B. pendula*.

Fig. 4. Leaf plates of different species of genus *Betula*:
А – *B. borysthena*; Б – *B. pubescens* ssp. *tortuosa*; В – *B. pubescens* ssp. *pubescens*; Г – *B. pendula*.

Деякі молекулярно-генетичні особливості

Порівняння послідовності фрагменту пластидного гену *rbcL* *B. borystenica*, довжина якого становила 500 п.н., з іншими сіквенсами 20 видів берез, взятих з бази даних NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) не показало не лише інформативних, а й навіть жодної варіабельної позиції. Для порівняння відмітимо, що в аутгрупі, яку представляв *Corylus avellana* L. (HM849918.1), по відношенню до вибірки видів роду *Betula* є лише одна варіабельна позиція (380 позиція вирівняної матриці), яка призводить до заміни 1 амінокислоти в послідовності: так, для всіх проаналізованих видів роду *Betula* характерний серин, тоді як для *C. avellana* – триптофан (127 позиція вирівняного амінокислотного коду) (рис. 5).

Таким чином, послідовності *rbcL* для штрихкодування не дають змоги розділити таксони на видовому рівні. Тобто, ця послідовність в межах даного роду не може бути застосована ані для ДНК-штрихкодування, ані для встановлення філогенетичних відносин.

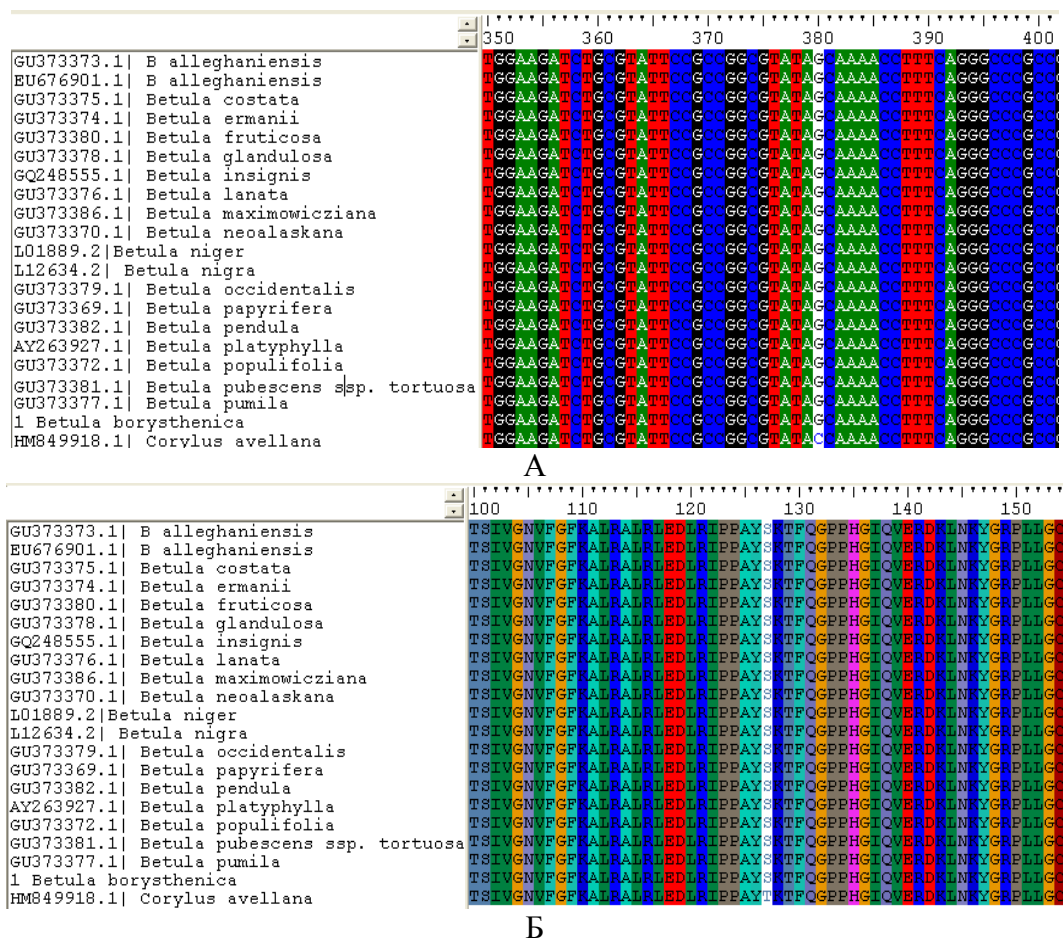


Рис. 5. Послідовності пластидного гену *rbcL* різних видів берез: А – нуклеотидні послідовності; Б – трансльовані послідовності.

Fig. 5. The sequences of the plastid gene *rbcL* in different birch species: А – nucleotide sequences; Б – translated sequences.

Порівняння послідовностей ITS1 показало, що даний спейсер *B. borystenica* виявився ідентичним до *B. pubescens* ssp. *pubescens*, депонованої в NCBI (AY761130.1) з 1 по 185 позицію, а також отриманих нами послідовностей *B. pubescens* ssp. *tortuosa* та типового зразка *B. klokovii* Zaverucha. Від даної групи відрізнялися 1 заміною *B. grossa* Siebold & Zucc. (AY761112.1) у 69 позиції. *B. humilis* Schrank (AY761114.1), *B. pendula*

(JN247411.1), *B. platyphylla* Sukaczew (FJ011778.1) та отримані нами послідовності з живих зразків *B. klokovii* та *B. klokovii* × *B. pendula*, а також типового гербарного зразка *B. kotulae* Zaverucha, відрізнялися заміною у 54 позиції. Решта проаналізованих сіквенсів мала від 2 до 7 заміни.

Дистанційні філогенетичні дерева, побудовані на основі моделей Кімури, Джукса-Кантора та F-84 методом найближчого сусідства (Neighbour-Join), а також дерева, побудовані за алгоритмами максимальної правдоподібності (ML) та максимальної економії (MP), показали відсутність інформативної бутстеп-підтримки за всіма кладами. Таким чином, філогенетичні відносини між таксонами залишаються невирішеними.

Висновки

Враховуючи наявні на сьогодні морфологічні, біохімічні та молекулярно-генетичні дані, можна припустити, що *B. borysthenica* є або варієтетом, формою, або навіть самостійним видом в межах групи видів *B. pubescens*. Для встановлення точного рангу даного таксону необхідне проведення подальших досліджень.

Подяки

Автори щиро вдячні співробітникам Київського національного університету імені Тараса Шевченка Карпенко Наталії Іванівні за допомогу у проведенні електрофорезу та Компанець Ірині Володимирівні за допомогу у спектрометричному вимірюванні концентрації білків, Смілянцю Юрію Леонідовичу за допомогу у фотографуванні об'єктів дослідження, а також Мосякіну Сергію Леонідовичу за цінні поради стосовно таксономії та загальної компоновки матеріалу.

References

- ANDREEV V.N. (1928-1929). *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii*. **XXI**: 185-193. [АНДРЕЕВ В.Н. (1928-1929). О южной расе пушистой березы. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. **XXI**: 185-193]
- BOIKO M.F., BOIKO P.M., LYCHYNKYNA N.A., MELNYK R.P., MOYSIYENKO I.I., KHODOSOVTSSEV O.YE. (2005). *Ukr. botan. zhurn.*, **62** (3): 396-398. [Бойко М.Ф., Бойко П.М., Личинкина Н.А., Мельник Р.П., Мойсієнко І.І. Ходосовцев О.Є. (2005). Про нову знахідку *Betula borysthenica* Klokov у пониззі Південного Бугу. *Укр. ботан. журн.*, **62** (3): 396-398]
- BRADFORD M.M. (1972). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**: 248-254.
- CHERVONA knyha Ukrainy. Roslynniyi svit (1996). Vidp. red. Shelyag-Sosonko Yu.R. Kyiv: Vyd-vo «Ukrayinska encyklopediya» im. M.P.Bazhana. 608 p. [ЧЕРВОНА книга України. Рослинний світ (1996). Відп. ред. Шеляг-Сосонко Ю.Р. Київ: Вид-во «Українська енциклопедія» ім. М.П.Бажана. 608 с.]
- CRÄUTLEIN M., KORPELAINEN H., PIETILÄINEN, RIKKINEN J. (2011). DNA barcoding: a tool for improved taxon identification and detection of species diversity. *Biodiversity Conservation.*, **20**: 373-389.
- DE JONG PC (1993). An introduction to *Betula*: Its morphology, evolution, classification and distribution with a survey of recent work. The IDS *Betula* Symposium, International Dendrology Society, Susses, U.K., Flora europaea Volume 1 Psilotaceae to Platanaceae, edited by Tutin T.G. et al.; assisted by – Akeroud J.R. and Newton M.E. – 2nd edition – Cambridge University Press. 581p.
- DOBROCHAEVA D.N., KOTOV M.I., PROKUDIN YU.N. i dr. (1987). *Opredelitel vysshih rasteniy Ukrainy*. Kiev: Naukova dumka. 548 p. [ДОБРОЧАЕВА Д.Н., КОТОВ М.И., ПРОКУДИН Ю.Н. и др. (1987). *Определитель высших растений Украины*. Киев: Наукова думка. 548 с.]
- FLORA SSSR (1935). Pod. red. Komarova V.L. Moskva: Izd-vo AN SSSR. **5**. 762 p. [ФЛОРА СССР (1935). Под. ред. Комарова В.Л. Москва: Изд-во АН СССР. **5**. 762 с.]
- FLORA URSS (1952). Pid zag. red. Kotova M.I. Kyiv: Vyd-vo AN URSS. **4**. 692 p. [ФЛОРА УРСР (1952). Під заг. ред. Котова М.І. Київ: Вид-во АН УРСР. **4**. 692 с.]

- GAAL E., MEDJESHI G., VERETSKEY L. (1982). Elektroforez v razdelenii biologicheskikh makromolekul. Moscow: Mir. 448 p. [ГААЛЬ Э., МЕДЬЕШИ Г., ВЕРЕЦКЕЙ Л. (1982). Электрофорез в разделении биологических макромолекул. Пер. с англ. Москва: Мир. 448 с.]
- GOVAERTS R., DRANSFIELD J., ZONA S.F., HODEL D.R., HENDERSON A. (2011). World Checklist of Arecaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved.
- HOLTZHAUER M. (2006). Basic Methods to Biochemical Lab. Berlin Heidelberg: Springer –Verlag. 251 p.
- JÄRVINEN P., PALMÉ A., MORALES L.O., LÄNNENPÄÄ M., KEINÄNEN M., SOPANEN T., LASCoux M. (2004). Phylogenetic relationships of *Betula* species (Betulaceae) based on nuclear ADH and chloroplast matK sequences. *Am J Bot.*, **91**: 1834–1845.
- KATALOG rarytetnogo bioriznomanittya zapovidnykiv i natsionalnykh pryrodnykh parkiv Ukrainy. Fitogenetychnyi fond, mikogenetychnyi fond, fitocenotychnyi fond (2002). Pid nauk. red. Popovycha S.Yu. Kyiv: Fitosociologichnyi centr. 276 p. [КАТАЛОГ раритетного біорізноманіття заповідників і національних природних парків України. Фітогенетичний фонд, мікогенетичний фонд, фітоценотичний фонд (2002). Під наук. ред. Поповича С.Ю. Київ: Фітосоціологічний центр. 276 с.]
- KLOKOV M.V. (1946). *Botan. zhurn. AN URSR.*, **3** (1-2): 17-18. [КЛОКОВ М.В. (1946). Нові матеріали до пізнання української флори. *Ботан. журн. АН УРСР.*, **3** (1-2): 17-18]
- KLOKOV M.V. (1979). *Novosti sistematiki vyisshih rasteniy*: 90-150. [КЛОКОВ М.В. (1979). Псаммофильные флористические комплексы на территории Украины (опыт анализа псаммофитона). *Новости систематики высших растений*: 90-150]
- KOTENKO T.I., UMANETS O.YU., SELYUNINA Z.V. (1999). *Zapovidna sprava v Ukraini.*, **5** (1): 61-72. [КОТЕНКО Т.И., УМАНЕЦ О.Ю., СЕЛЮНИНА З.В. (1999). Природный комплекс Казачьелагерской арены Нижнеднепровских песков и проблемы его сохранения. *Заповідна справа в Україні.*, **5** (1): 61-72]
- LAEMMLI U.K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680-685.
- LEDEBOUR K.F. (1847-1849). *Flora Rossica sive Enumeratio plantarum intotius Imperii Rossici provinciis Europaeis, Asiaticis et Americanis husque observatorum. Stuttgartiae: Schweizerbart. III.*
- MAGNOLIIDAE and Hamamelidae Flora of North America north of Mexico (1997) Flora of North America Editorial Committee – Oxford University Press, New York, New York, USA. **3**. 590 p.
- METODY prakticheskoy biohimii (1978). Pod red. Uilyamsa B., Uilsona K., M.: Mir. 268 p. [МЕТОДЫ практической биохимии (1978). Под ред. Уильямса Б., Уилсона К., М.: Мир. 268 с.]
- MOYSIYENKO I.I. (2007). Deyaki ekologo-biologichni osoblyvosti berezy dniprovs'koyi (*Betula borysthonica* Klokov). VI-ti Mizhnar. Novor. biolog. chyt. (Mykolayiv, december 2007.): zb. nauk. prats, vypusk 7 / Pid. red. S.V.Getmanceva. Mykolayiv: MDU imeni V.O.Sухомлинського: 204-206. [МОЙСИЄНКО І.І. (2007). Деякі еколого-біологічні особливості берези дніпровської (*Betula borysthonica* Klokov). VI-ті Міжнародні Новорічні біологічні читання (Миколаїв, грудень 2007 р.): зб. наук. праць, випуск 7 / Під. ред. С.В.Гетманцева. Миколаїв: МДУ імені В.О.Сухомлинського: 204-206]
- MOYSIYENKO I.I., UMANETS O.YU., VOIKO M.F. (2009). Bereza dniprovska – *Betula borysthonica* Klokov. Chervona knyga Ukrainy. Roslynniy svit. Kyiv: Vyd-vo Globalkolsaltynг. 342 p. [МОЙСИЄНКО І.І., УМАНЕЦ О.Ю., БОЙКО М.Ф. (2009). Береза дніпровська – *Betula borysthonica* Klokov. Червона книга України. Рослинний світ. Київ: Вид-во Глобалколсалтинг. 342 с.]
- OSTERMAN L.A. (1981). *Metody issledovaniya belkov i nukleinovyyih kislot: Elektroforez i ultratsentrifugirovanie (prakticheskoe posobie)*. M.: Nauka. 288 p. [ОСТЕРМАН Л.А. (1981). Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука. 288 с.]
- PACHOSKIY I.K. (1915). *Opisanie rastitelnosti Khersonskoy gubernii. Lesa. Materialy po issledovaniyu pochv i gruntov Khersonskoy gubernii. 1.* 258 p. [ПАЧОСКИЙ И.К. (1915). Описание растительности Херсонской губернии. Леса. Материалы по исследованию почв и грунтов Херсонской губернии. 1. 258 с.]
- SCHENK M.F., THIENPONT C.-N., KOOPMAN W.J.M., GILISSEN L.J.W.J., SMULDERS M.J.M. (2008). Phylogenetic relationships in *Betula* (Betulaceae) based on AFLP markers. *Tree Genetics & Genomes*, **4**: 911-924.
- SREDINSKIY N.K. (1872-1873). *Zapiski Novoros. obsch. est. I*: 1-292. [СРЕДИНСКИЙ Н.К. (1872-1873). Материалы для флоры Новороссийского края и Бессарабии. *Записки Новорос. общ. ест. I*: 1-292]
- ZELENA Knyga Ukrainy. Lisy (2002). Yu.R. Shelyag-Sosonko, P.M. Ustymenko, S.Yu. Popovych, L.P. Vakarenko. Kyiv: Nauk. dumka. 253 p. [ЗЕЛЕНА книга України. Ліси (2002). Ю.Р. Шеляг-Сосонко, П.М. Устименко, С.Ю. Попович, Л.П. Вакаренко. Київ: Наук. думка. 253 с.]
- ZELENA Knyga Ukrainy. Ridkisini i taki, sho perebuva'yut pid zagrozo'y znyknennya, ta ty'povi pryrodni roslynni ugrupovannya, yaki pidlyagayut okhoroni (2009). Pid. zag. red. Ya.P.Didkha. Kyiv: Alterpres. 448 p. [ЗЕЛЕНА книга України. Рідкісні і такі, що перебувають під загрозою зникнення, та типові природні рослинні угруповання, які підлягають охороні (2009). Під. заг. ред. Я.П.Дідка. Київ: Alterpres. 448 р.]

природні рослинні угруповання, які підлягають охороні (2009). Під заг. ред. Я.П.Дідуха. Київ: Альтерпрес. 448 с.]

ZELENAYA Kniga Ukrainskoy SSR: Redkie, ischezayuschie i tipichnyie, nuzhdayuschiesya v ohrane rastitelnyie soobschestva (1987). Pod obsch. red. Shelyaga-Sosonko Yu.R. Kiev: Nauk. dumka. 216 p. [ЗЕЛЕНАЯ книга Украинской ССР: Редкие, исчезающие и типичные, нуждающиеся в охране растительные сообщества (1987). Под общ. ред. Шеляга-Сосонко Ю.Р. Киев: Наук. думка. 216 с.]

Рекомендує до друку
М.Ф. Бойко

Отримано 22.03.2013 р.

Адреси авторів:

A.S. Tareev

V.R. Boyko

I.Yu. Kostikov

Київський національний університет

імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64/13

Київ, 01601

Україна

E-mail: andrey_tareev@univ.kiev.ua

I.I. Moysiienko

Херсонський державний університет

просп. 40 років Жовтня, 27

Херсон, 73000

Україна

Authors' addresses:

A.S. Tareiev

V.R. Boyko

I.Yu. Kostikov

Taras Shevchenko National University of Kyiv

Volodymyrska str., 64/13,

Kyiv, 01601

Ukraine

E-mail: andrey_tareev@univ.kiev.ua

I.I. Moysiienko

Kherson State University

40 Rokiv Zhovtnya Ave., 27,

Kherson, 73000

Ukraine