



© Ю. В. Михайлова^{1,2},
Е. Е. Крапивская¹,
А. В. Родионов^{1,2}

¹Ботанический институт
им. В. Л. Комарова РАН,
Санкт-Петербург;

²Санкт-Петербургский
государственный университет

Xamilenis — олиготипный род, выделенный в трибе *Sileneae* в 2001 году. Мы рассмотрели обоснованность выделения этого рода в свете данных молекулярной филогении. Были проанализированы нуклеотидные последовательности ядерного (ITS1-5, 8S-ITS2) и хлоропластного (интрон гена *trnL*) геномов у представителей видов этого рода из нескольких разных местобитаний, а также ряд других видов трибы *Sileneae*. Филогенетические деревья были построены с помощью метода объединения соседей и метода Байеса. Показано, что представители *Xamilenis* не формируют монофилетическую группу и имеют близкие связи с видами *Silene* из подрода *Siphonomorpha*. Полученные результаты подвергают сомнению принятие *Xamilenis* как самостоятельного рода.

✿ **Ключевые слова:** *Sileneae*; *Silene*; *Xamilenis*; ITS; интрон *trnL*.

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОСТИ РОДА *XAMILENIS* RAF. В СОСТАВЕ ТРИБЫ *SILENEAE*

ВВЕДЕНИЕ

Род *Xamilenis* Raf. был впервые описан S. C. Rafinesque (1840) в труде «Autikon botanikon». К этому таксону он отнёс секцию *Nanosilene* рода *Silene* L. (смолёвка), выделенную Otth'ом (1824). Среди отличительных признаков рода Rafinesque отметил своеобразный внешний облик, дерновинную форму роста, одиночные цветки на цветоножке, двудомность. Название *Xamilenis* Rafinesque объясняет как «карликовая гвоздика». Он включил в состав рода единственный вид *Silene acaulis*, которому дал название *Xamilenis uniflora*. Кроме *Xamilenis*, Rafinesque также выделил ещё несколько родов из смолёвок: *Evastoma*, *Pleconax*, *Alifolia*, *Ixoca*. Работы Rafinesque подвергались современниками критике, а многие его описания новых таксонов оставались долгое время незамеченными составителями Index Kewensis, и, как следствие, неизвестными для большинства ботаников (Warren, 2004). Только 80 лет спустя F. W. Pennel (1921) опубликовал список «неучтённых» родов из «Autikon botanikon». Причина невнимания к таксономическим предложениям Rafinesque со стороны систематиков состояла в чрезмерной, как полагали его современники, увлеченности автора описанием новых видов (Pennel, 1921).

Таким образом, описание нового рода *Xamilenis* оставалось незамеченным долгое время. *Silene acaulis* в обработках относили к секции или серии *Nanosilene* рода *Silene* без указания в списке синонимов *Xamilenis* (Rohrbach, 1868; Williams, 1896; Флора СССР, 1936). Кроме *S. acaulis* в секцию *Nanosilene* также включали альпийскую *S. dinarica* Spreng. (Rohrbach, 1868; Williams, 1896). Шишкин во «Флоре СССР» включил в секцию *Nanosilene* западно-азиатскую *S. dianthoides* Pers., кавказский эндемик *S. marcowizii* Schischk. и европейскую *S. rupestris* L. В настоящее время *S. marcowizii* рассматривается как синоним *S. dianthoides*, которая входит в олиготипную секцию *Dianthoidea* подрода *Siphonomorpha* (Конспект флоры Кавказа, 2012), а *S. rupestris* как *Minjaevia rupestris* (Флора Восточной Европы, 2004).

В обработке *Sileneae* для флоры Восточной Европы Н. Н. Цвелёв (2001) вновь обратился к роду *Xamilenis* (арктосмолка) и включил в него три вида: *X. acaulis* (= *S. acaulis*), *X. dinarica* (= *S. dinarica*) и *X. exscapa* (= *S. exscapa* ssp. *exscapa*). Н. Н. Цвелёв указал на родство *Xamilenis* не только с *Silene* s. str., но и с *Viscaria* Berhn. Монограф рода *Silene* Г. А. Лазьков (2002) отметил ошибочность перемещения *S. dinarica* в род *Xamilenis*, который, по его мнению, близок к *Elisanthe*. *S. dinarica* он помещает в секцию *Spergulifolia* подрода *Siphonomorpha*. Система Н. Н. Цвелёва легла в основу изложения материала по *Sileneae* во «Флоре восточной Европы» (2004).

В настоящее время ботаники обладают широким спектром современных методов, прежде всего молекулярно-филогенетических, которые активно используются для изучения эволюции растений и построения естественной системы таксонов. С помощью молекулярных маркеров изучаются границы трибы *Sileneae* (Oxelman, Liden, 1995; Oxelman et al., 1997), выявляются таксоны гибридного происхождения (Frajman et al., 2009a; Petri et al., 2013), уточняется филогения отдельных родов (*Atocion*, *Viscaria* — Frajman

Поступила в редакцию 11.07.2014
Принята к публикации 13.11.2014

et al., 2009b; *Melanrium* — Rautenberg et al., 2010; североамериканские *Silene* — Burleigh, Holtsford, 2003). В ряде этих работ в поле зрения попадает и *S. acaulis* (= *X. acaulis*). Однако европейские систематики не рассматривают проблему выделения рода *Xamilenis* в связи с более широким пониманием границ рода *Silene*. В то же время таксон *Xamilenis* принимается, как уже сказано, в такой фундаментальной работе, как «Флора Восточной Европы».

Целью данной работы было определить, есть ли основания с точки зрения молекулярной филогении считать *Xamilenis* самостоятельным родом. Для этого мы должны ответить на вопрос о монофилетичности рода *Xamilenis* в современном его понимании. Также необходимо сравнить представителей этого таксона с другими, прежде всего из тех групп *Sileneae*, которые систематики указывают как родственные — *Viscaria*, *Silene* и *Elisanthe*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДНК была выделена из гербарных материалов (табл. 1) с помощью СТАВ-метода (Doyle, Doyle, 1987) с модификациями (Kim et al., 2009). В связи с обширным ареалом *X. acaulis* были исследованы растения из нескольких географических точек. Также в работе были использованы образцы ДНК *X. acaulis* из европейской части ареала, выделенные ранее для филогеографического исследования (Михайлова и др., 2009). Их последовательности ITS представлены в GenBank под номерами KM011926, —31, —32, —39, —55 и —57. Для амплификации и секвенирования фрагментов ITS1-5,8S-ITS2 были использованы праймеры ITS-1P (Righway et al., 2003) и ITS-4 (White et al., 1990), а также в случае необходимости — ITS-2 и ITS-3 (White et al., 1990). Условия ПЦР: 95 °C — 5', 35 циклов (95 °C — 50", 56 °C — 50", 72 °C — 50"), 72 °C — 10'. Для амплификации фрагмента хлоропластного гена *trnL* были использованы универсальные праймеры и рекомендуемые для них условия (Taberlet et al., 1991). В состав реакционной среды входили 0,5 мкМ каждого праймера (Бигль, Россия), 2,5 ед. Таq-полимеразы (Синтол, Россия), ПЦР-Буфер-Б для Таq ДНК-полимеразы (Синтол, Россия), 0,2 мМ нуклеотидов (Силекс, Россия), 5–20 нг ДНК и деионизированная вода. Секвенирование осуществляли в Центре коллективного пользования БИН РАН по методу Sanger'a на генетическом анализаторе AbiPrizm с помощью набора «BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit» (Applied Biosystems, США).

Для молекулярно-филогенетического анализа были использованы не только полученные нами нуклеотидные последовательности, но и импортированные из базы данных GeneBank (GeneBank, 4.06.2014; Benson et al., 2005). Отбор последовательностей проводился таким образом, чтобы максимально представить разнообра-

зие родов, описанных в трибе согласно системе Цвелёва (2001). Список импортированных последовательностей: *Viscaria viscosa* HM590313, *Viscaria alpina* X86878, *Polyschemone nivalis* X86861, *Coccyganthe flos-cuculi* HM590312, *Coronaria coriacea* X86891 и EF674242, *Agrostemma githago* X86895 и EU221639, *Lychnis chalconica* X86894, *Atocion armeria* X86880, *Sophianthe samojedorum* GQ245539, *Gastrolychnis pauciflora* GQ245531, *Elisanthe noctiflora* FN821141 и FN821367, *E. akinfievii* FN821320, *Carpophora viscosa* FN821148, *Silenanthe zawaadskii* X86883 и EU221621, *Minjaevia rupestris* FJ384039, *Ebraxis antirrhina* DQ908631, *Cucubalis baccifer* X86889, *Pleconax conica* FN821100 и EU221624, *P. conoidea* FN821101 и FN821324, *P. subconica* HQ334913, *P. ammophilla* FN821321, *P. macrodonta* FN821359, *Otites cuneifolia* EF060233, *Silene nutans* DQ059406 и DQ061970, *Silene viridiflora* DQ059414 и DQ061975, *S. italica* DQ059395 и DQ061956, *S. nemoralis* EF60230, *S. bupleroides* X86864, *S. littorea* EU330445 и EU221619, *S. dichotoma* X86848, *S. gallica* X86847, *S. pendula* FN821142, *S. pauciflora* GQ245535, *S. pygmaea* FN821368, *S. lydia* HQ334975, *S. fernandezii* DQ061955, *S. longica* DQ061955, *S. rothmaleri* DQ061963, *Xamilenis acaulis* GQ245530, AY116473 и AY116482, *Melandrium marizii* EF646885, *M. latifolium* EF647198, *M. fedchenkoana* FN821336, *Oberna behen* FN821374.

Анализ нуклеотидных последовательностей и построение дерева методом объединения соседей осуществляли в пакете MEGA 5 (Tamura et al., 2011). Выравнивание проводили с помощью алгоритма MAFFT (Katoh, Toh, 2008) на сайте Европейского Института Биоинформатики (EMBL-EBI 4.06.2014; McWilliam et al., 2013). Оптимальную эволюционную модель подбирали в программе ModelGenerator (Keane et al., 2006). Построение дерева с использованием байесовского подхода проводили в программе MrBayes3.1 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001). Использовали 10 000 000 генераций для анализа ITS и 2 000 000 генераций для интрона *trnL*. В качестве внешней группы была выбрана *Agrostemma githago* (куколь).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были получены фрагменты ITS для 25 растений из трибы *Sileneae*, из которых 17 были представителями *Xamilenis*. Длина фрагментов составила: ITS1—223–245 п.о., ген 5.8S рРНК — 150–155 п.о., ITS2—217–229 п.о.

Для реконструкции филогении по ITS кроме полученных нами было использовано 26 последовательностей *Sileneae* из GenBank. Р-расстояния между нуклеотидными последовательностями ITS варьировали от 0 до 11,9 % (табл. 2). Большие значения межнуклеотидных расстояний (около 11 %) наблюдались при сравнении *X. acaulis* и *Agrostemma githago*. Минимальные расстояния были

Таблица 1

Происхождение образцов, использованных в работе

| Вид (синоним*) | Информация об географическом происхождении образца, времени сбора, коллекторе и месте хранения | Номера последовательностей в GenBank |
|--|--|---------------------------------------|
| <i>Xamilenis acaulis</i> (L.) Tzvel. (<i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq.) | Чукотский полуостров, Чукотский район, окрестности реки Лорэн, 18.07.2010, Ю. В. Михайлова | ITS-KJ918487 |
| <i>Xamilenis acaulis</i> (L.) Tzvel. (<i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq.) | Аляска, национальный парк Кенай-Фьордс, гербарий UVIC | ITS-KM011912 |
| <i>Xamilenis acaulis</i> (L.) Tzvel. (<i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq.) | Аризона, горы Сан-Франциско, L. Lamil, гербарий V | ITS-KM011925 |
| <i>Xamilenis exscapa</i> (All.) Tzvel. (<i>Silene acaulis</i> subsp. <i>exscapa</i> (All.) Braun-Blanq.) | Канадский Арктический Архипелаг, о-в Баффинова Земля, Лейк-Харбор, 22.07.1933, собр. М. О. Malte, гербарий LE | ITS-KJ918491 |
| <i>Xamilenis dinarica</i> (Spreng.) Tzvel. (<i>Silene dinarica</i> Spreng.) | Горный массив Фэгераш (Румыния, Сибю), склон у водопада Блеа. 3.08.1984. Ф. Сегноч. Гербарий МНА | ITS-KJ918496 <i>trnL</i> -KJ918503 |
| <i>Melandrium dioicum</i> (L.) Coss. et Germ. (<i>Silene dioica</i> (L.) Clairv.) | Ленинградская область, г. Выборг, парк Монрепо, 2011, Ю. В. Михайлова | ITS-KJ918489 |
| <i>Melandrium album</i> (Mill.) Garcke (<i>Silene latifolia</i> subsp. (Mill.) Greuter et Burdet) | Санкт-Петербург, берег Обводного канала около Американских мостов, 2011, Ю. В. Михайлова | <i>trnL</i> -KJ918506 |
| <i>Gastrolychnis apetala</i> (L.) Tolm. et Kozhanch. (<i>Silene uralensis</i> (Rupr.) Bocquet) | Чукотский полуостров, Чукотский район, верховья реки Лорэн, 17.07.2010, Ю. В. Михайлова | ITS-KM011961 <i>trnL</i> -KJ918504 |
| <i>Elisanthe aprica</i> (Turcz. ex Fisher et Meyer) Peschkova (<i>Silene aprica</i> Turcz. ex Fisher et Meyer) | Иркутская область, Ольхонский район, Маломорское побережье оз. Байкал, залив Мухор, основание полуострова Улан-Хада. 30.07.2010. Собр. С. Г. Казановский, опр. Г. А. Лазьков | ITS-KJ918502 |
| <i>Oberna behen</i> (L.) Ikonn. (<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke) | Иркутская область, Ольхонский район, 10 км северо-западнее с. Кочерикова, 2.08.2003. Собр. С. Г. Казановский, опр. А. А. Киселёва. | ITS-KJ918500 |
| <i>Sophianthe samojedorum</i> (Sambuk) Tzvel. (<i>Silene samojedorum</i> (Sambuk) Oxelman) | Западный Таймыр, посёлок Тарая, яры, берега Пясны, южный склон, средняя часть. 1.08.2010, собр. Л. Л. Заноха, опр. В. В. Петровский | ITS-KJ918499 |
| <i>Coccyganthe flos-cuculi</i> (L.) Fourg. (= <i>Lychnis flos-cuculi</i> L.) | Петергоф, парк БИНИИ. 06. 2001. Ю.В. Михайлова | ITS-KJ918497 |
| <i>Viscaria viscosa</i> (Scop.) Aschers. (= <i>Viscaria vulgaris</i> Bernh.) | Ленинградская область, Карельский перешеек, окрестности платформы «63 км», 06. 2001. Ю. В. Михайлова | ITS-KJ918495 |
| <i>Silene paucifolia</i> Ledeb. | Таймыр, 11.07.2010, С. В. Чиненко | ITS-KJ918490 |
| <i>Silene stenophylla</i> Ledeb. | Чукотский полуостров, Чукотский район, верховья реки Лорэн, 23.07.2010, Ю. В. Михайлова | ITS-KJ918487 |
| <i>Silene shamarensis</i> Turcz. | Восточный Саян, Китойский хребет. Республика Бурятия, окинский район, окрестности пос. Самарта, верховье р. Китой, гора Васильевская. 28.08.2010. Собр. С. Г. Казановский, опр. Г. А. Лазьков. | ITS-KJ918492 |
| <i>Silene amoena</i> L. (<i>Silene repens</i> Patrin) | Иркутская область, Ольхонский район, Приморский хребет, окрестности дер. Черноруд. 14.07.1998. Собр. А. В. Верхозина, опр. А. А. Киселёва. | ITS-KJ918501 |
| <i>Silene dianthoides</i> Pers. | Армения, Севанский район, гора против полуострова Севан. 17. 05. 1961. Н.Савич. Гербарий LE | ITS-KJ918494 |
| <i>Silene dianthoides</i> Pers. | Южное Закавказье, Армения, Горисский район, окр. Сваранц, г. Арамазд, 7.1967. Собр. Н. Д. Агапова, опр. Г. А. Лазьков. Гербарий LE | ITS-KJ918499 |
| <i>Silene jennisensis</i> subsp. <i>popovii</i> Zuev. | Республика Бурятия, Селенгинский район, в 3 км восточнее п. Таёжный, р. Темник, левый берег, 16.8.2006, собр. С. Г. Казановский, опр. А. А. Киселёва. | <i>trnL</i> -KJ918505 ITS-KM011962 |

* — в связи с сильными различиями в принятии границ и состава родов трибы *Sileneae* современными систематиками для большинства видов приводятся два названия: основное, согласно системе Н. Н. Цвелёва (2001), и в скобках синоним, согласно классификации (Oxelman et al., 2013)

Таблица 2

Межнуклеотидные расстояния ITS1-5,8SpPHK — ITS2 у *Xamilenis* и предполагаемых родственных таксонов трибы *Sileneae*

| Рода | <i>Xamilenis</i> | <i>Silene</i> | <i>Elisanthe</i> | <i>Viscaria</i> |
|---------------------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|
| p-расстояния внутри родов | | | | |
| | 0–2,2 % | 0,5–5,6 % | 4,8 % | 2,4 % |
| p-расстояния между родами | | | | |
| <i>Silene</i> | 0,2–5,3 % | | | |
| <i>Elisanthe</i> | 2,7–6,3 % | 2,4–6,5 % | | |
| <i>Viscaria</i> | 5,3–7,7 % | 4,8–7,7 % | 5,6–8,7 % | |
| <i>Polyschemone</i> | 0,2–1,5 % | 0,7–4,5 % | 3,1–5,3 % | 5,8–7 % |
| <i>Gastrolychnis</i> | 3,6–5,1 % | 1,9–5,3 % | 2,7–3,4 % | 7–7,3 % |
| <i>Sophianthe</i> | 4,4–5,6 % | 2,9–5,8 % | 2,2–4,6 % | 8–8,2 % |
| <i>Carpophora</i> | 4,1–5,3 % | 2,2–5,6 % | 2,9–3,4 % | 7,7–8 % |
| <i>Oberna</i> | 2,9–4,1 % | 1,7–4,6 % | 2,9–4,6 % | 6,1–6,5 % |
| <i>Melandrium</i> | 4,1–5,3 % | 3,1–5,6 % | 2,4–3,9 % | 6,5–7 % |
| <i>Pleconax</i> | 3,6–5,3 % | 3,4–5,7 % | 2,1–5,5 % | 6,1–6,5 % |
| <i>Otites</i> | 1,2–2,4 % | 1–5 % | 3,1–5,8 % | 6,3–7,3 % |
| <i>Coccyganthe</i> | 4,6–5,8 % | 4–6,5 % | 4,6–7,5 % | 6,3 % |
| <i>Coronaria</i> | 4,8–6,1 % | 4,4–6,5 % | 4,8–7,7 % | 5,8–6,1 % |
| <i>Lychnis</i> | 4,4–5,6 % | 3,9–6,8 % | 4,4–7,7 % | 6,3 % |
| <i>Ebraxis</i> | 1,2–2,4 % | 1,2–4,8 % | 3,1–5,6 % | 6,1–6,8 % |
| <i>Atocion</i> | 6,8–7,7 % | 6,3–8,2 % | 6,3–8,7 % | 3,4–3,6 % |
| <i>Minjaevia</i> | 6,5–7,7 % | 6–8 % | 5,6–8,5 % | 2,7–2,9 % |
| <i>Cucubalis</i> | 3,1–4,6 % | 3,1–5,1 % | 3,1–5,1 % | 6,8–7 % |
| <i>Agrostemma</i> | 10,7–11,9 % | 9–11,9 % | 9,4–10,7 % | 11,1 % |

между образцами *X. acaulis* из Европы (0%), а также между *X. acaulis*, *Polyschemone nivalis* и рядом смолёвок из подрода *Siphonomorpha* — *S. italica*, *S. nemoralis*, *S. jennisensis*, *S. nutans*, *S. pauciflora* (0,1%). Внутри группы *Xamilenis* наибольшее p-расстояние наблюдалось между *X. dinarica* и *X. acaulis/X. exscapa* (1–2,2%), а также между образцом *X. acaulis* из востока Канады (Ньюфаундленд) и остальными представителями рода (1–1,9%). Несмотря на показанное ранее высокое генетическое разнообразие по маркерам AFLP среди представителей *X. acaulis* из разных частей Европы (Михайлова и др., 2009), значимого полиморфизма в последовательностях ITS не было найдено. В то же время подтвердилась обособленность растений с востока Канады.

На филогенетическом дереве последовательностей ITS (рис. 1), построенном с помощью байесовского подхода, крупные клады имеют довольно слабую статистическую поддержку (0,63–0,65). Но можно выделить более мелкие клады с высокими значениями апостериорной вероятности (0,97–1). Самая большая из хорошо поддержанных клад — «силеноидная» (клада 3), кроме неё можно выделить небольшие клады конусовок (*Pleconax*, клада 1), «смолковую» (клада 4), «лихнисовую» (клада 5) и сборную (клада 2). Отношения между этими кладами, а также между видами *Cucubalis baccifer*, *Melandrium dioica*, *Elisanthe noctiflora* и неко-

торыми *Silene* на дереве плохо разрешены. Представители родов *Viscaria* и *Elisanthe* оказываются в разных кладах с *Xamilenis*. Филогенетическое дерево, построенное методом объединения соседей, значительно менее информативно, так как большинство ветвей на нём не разрешено (данные не показаны). Можно выделить только несколько клад с хорошей бутстреп-поддержкой — «лихнисовую», «смолковую» и *Pleconax*. Эти клады совпадают по составу с таковыми в байесовском дереве.

Представители *X. acaulis* из разных географических областей формируют две субклады. В первую вместе с *Polyschemone nivalis* попадают все европейские растения этого вида и два американских (из Аляски и Колорадо). Вторую субкладу составляют образцы из Америки и Чукотки вместе с *X. exscapa* из Канадского Арктического Архипелага. Эти две субклады объединяются вместе с другими смолёвками из подрода *Siphonomorpha* (секции *Siphonomorpha*, *Italicae*, *Graminiformes*). В нашем исследовании, так же как и в более ранней работе (Oxelman, Liden, 1995), на филогенетическом дереве, построенном по последовательностям рДНК, к *X. acaulis* наиболее близка *Polyschemone nivalis*.

Таким образом, род *Xamilenis* на филогенетических деревьях последовательностей ITS монофилетичной клады не формирует (рис. 1), по p-расстояниям виды этого

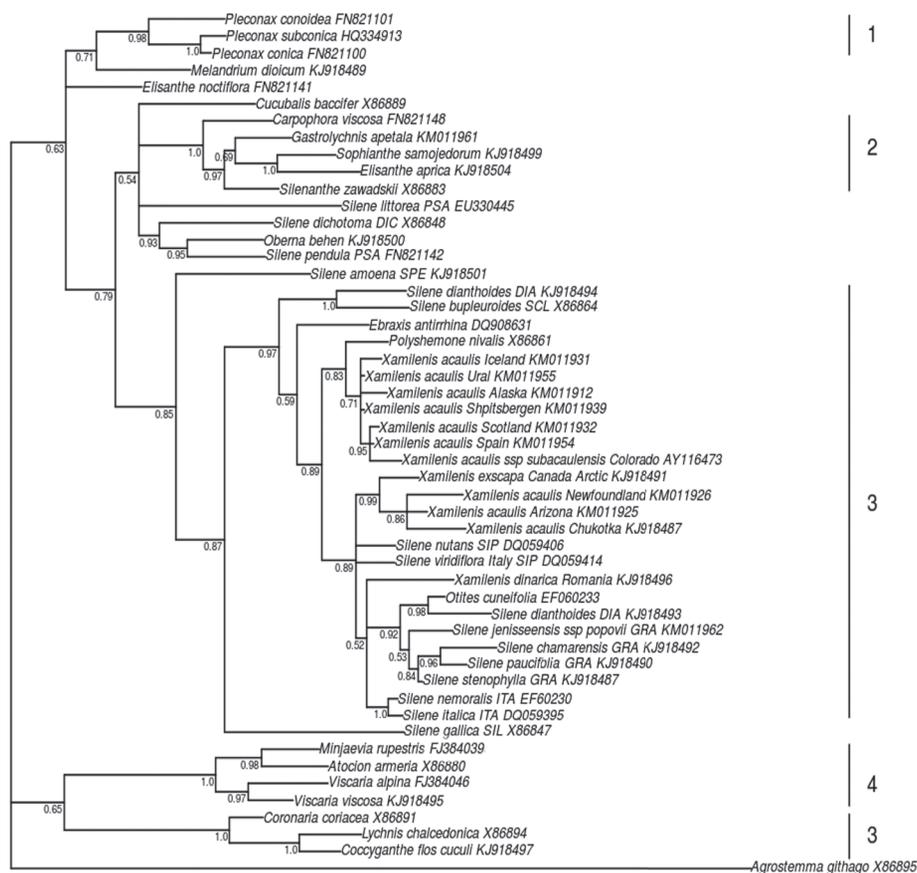


Рис. 1. Филогенетическое дерево последовательностей ITS 51 представителя *Sileneae*, построенное с помощью байесовского подхода. Указаны значения апостериорной вероятности. После названия для представителей *Xamilenis* указано географическое происхождение, для видов *Silene*-секционная принадлежность (DIA: *Dianthoidea*, DIC: *Dichotomae*, GRA: *Graminiformes*, ITA: *Italicae*, PSA: *Psammophilae*, SCL: *Sclerocalycinae*, SIP: *Siphonomorpha*, SIL: *Silene*, SPE: *Spergulfoliae*)

рода в равной степени близки некоторым видам рода *Silene* (табл. 2).

В последовательностях ITS были найдены специфичные делеция и нуклеотидные замены, характерные для *Viscaria*, *Atocion* и *Minjaevia*, *Lychnis* и *Pleconax*. Так, у *Viscaria*, *Atocion* и *Minjaevia* в 62 и 64 положениях ITS1 характерны dG и dA соответственно, тогда как для остальных — dT и dG. Также для этих трёх родов характерна делеция трёх нуклеотидов в положениях 65–67 ITS1.

Анализ последовательностей интрона *trnL* хпДНК проводился по меньшему числу растений. Это связано с техническими трудностями при амплификации и секвенировании данных фрагментов, обусловленными наличием гомополимерных участков. В результате были получены фрагменты, представляющие собой большую часть интрона гена *trnL*-Leu (UAA) без участка 48 п. о. на 5'-конце. Кроме полученных нами, было использовано 23 последовательности из GenBank. Интроны *trnL* отличались низким содержанием нуклеотидов GC (30,6 %) и высоким — AT (69,4 %). Длина фрагментов

составляла 521–600 п. о. Р-расстояния варьировали от 0 до 7,7 %. Минимальные расстояния наблюдались между последовательностями видов рода *Melandrium*, максимальные — между американским образцом *X. acaulis* и *S. littorea*.

Хотя отношения между многими ветвями дерева последовательностей интрона *trnL* (рис. 2) также не полностью разрешены, на нём можно выделить три клады с высокой апостериорной вероятностью. В первую крупную кладу дерева хпДНК (клада 1) попадают те представители, которые на дереве ITS входили в «силеноидную», «смолковую» и «лихнисовую» клады, за исключением *Coronaria coriacea* и *S. jennisseensis*. В этой кладе с хорошей поддержкой выделяются три субклады: *Viscaria*+*Coccyganthe*, *X. acaulis*, смолёвки секции *Siphonomorpha*. Вторая большая клада дерева хпДНК (клада 3) содержит виды, образовавшие на дереве ITS кладу конусовок, смешанную, ряд видов с неопределённым положением, а также *S. jennisseensis*. Эти клады могут маркировать хорошо дивергировавшие группы в трибе, линии сформировавшиеся давно. В одной

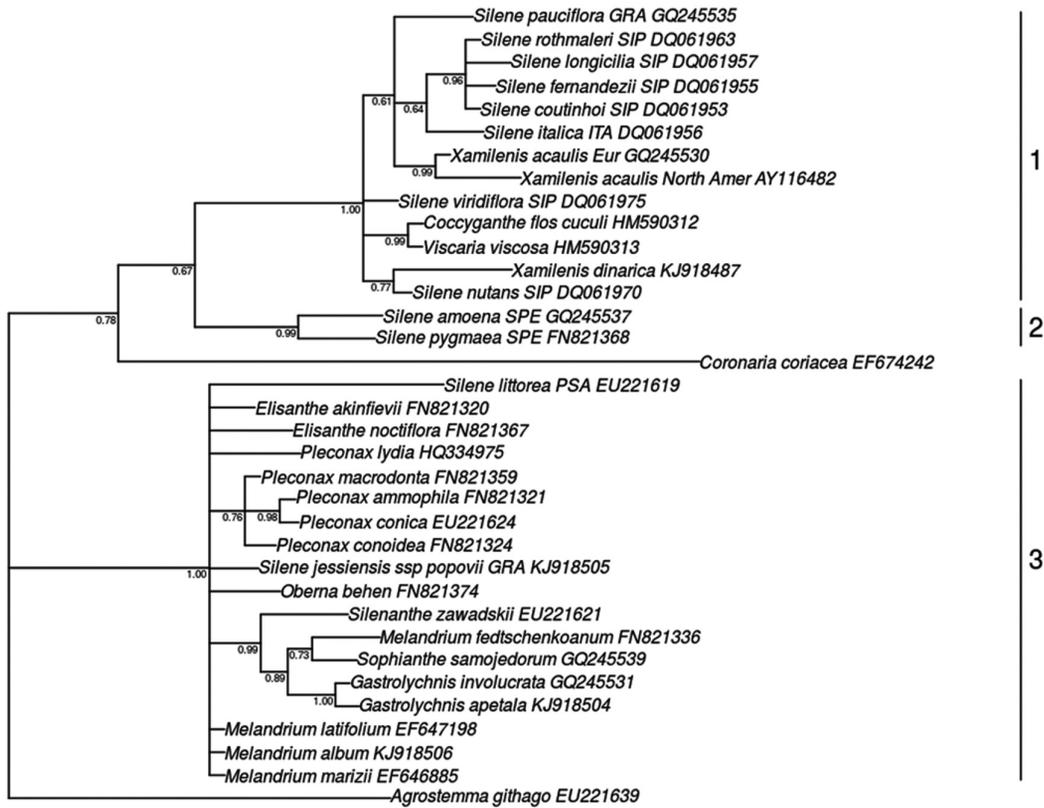


Рис. 2. Филогенетическое дерево последовательностей интрона хлоропластного гена *trnL* 35 представителей *Sileneae*, построенное с помощью байесовского подхода. Указаны значения апостериорной вероятности. После названия для представителей *X. acaulis* указано географическое происхождение, для видов *Silene*-секционная принадлежность (GRA: *Graminiformes*, ITA: *Italicae*, PSA: *Psammophilae*, SIP: *Siphonomorpa*, SPE: *Spergulifoliae*)

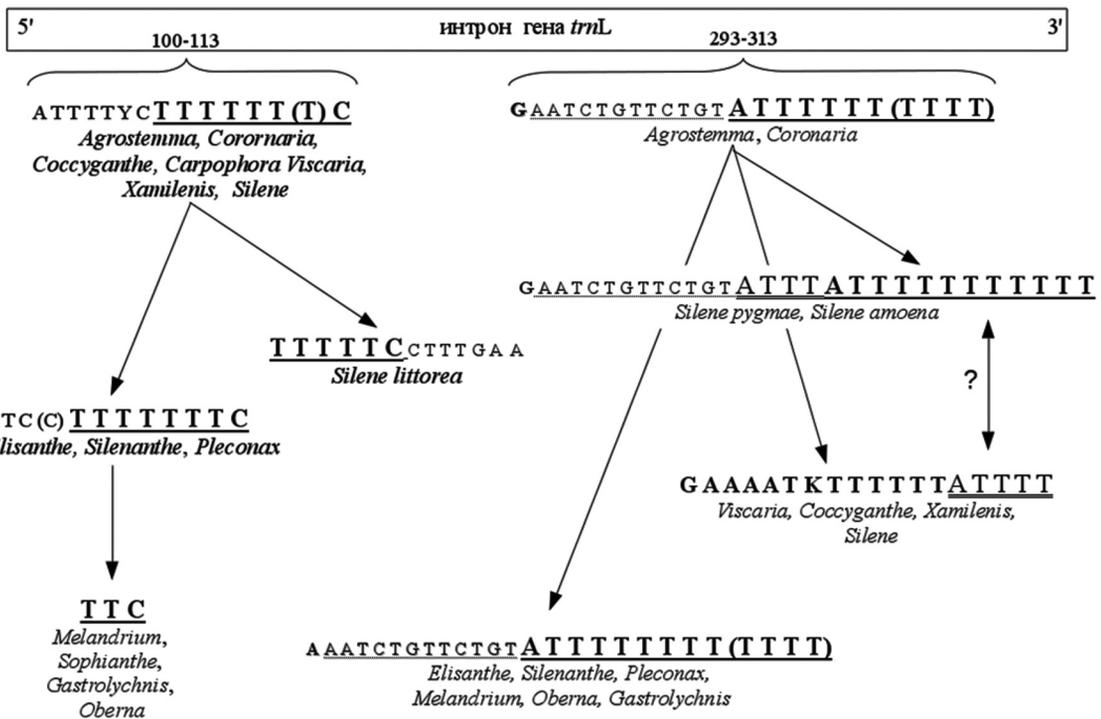


Рис. 3. Схема возможных изменений двух полиморфных участков в интроне гена *trnL* в ходе эволюции родов трибы *Sileneae*. Положение участков показано для последовательности *Agrostemma githago*

кладе с *Xamilenis* оказываются представители *Silene* и *Viscaria*, но не *Elisanthe*.

Показано, что появление вставок, делеций и инверсий в межгенных спейсерах и интронах хпДНК у *Sileneae* происходит быстрее, чем накопление нуклеотидных замен (Ingvarsson et al., 2003). Мы обратили внимание на такие изменения в изученных последовательностях интрона гена *trnL*. Были выявлены несколько полиморфных участков с инсерциями и делециями, характерными как для групп родов, так и для отдельных родов и даже секции. На рисунке 3 представлена возможная схема изменений двух полиморфных участков в ходе эволюции. Среди варибельных участков в хпДНК, которые могут рассматриваться как синапоморфные признаки, не выявлено характерных только для *Xamilenis* состояний. Состав этих фрагментов у *Xamilenis* соответствовал таковому у основной группы смолёвок.

Систематика *Sileneae* сопряжена с определёнными сложностями, которые могут быть связаны с гибридизационными событиями (Frajman et al., 2009a). Недавно было показано наличие значительного потока генов даже между хорошо дивергировавшими видами (Petri et al., 2013). Этим можно объяснить политомию ветвей филогенетических деревьев.

По результатам анализа хпДНК и рДНК мы не видим аргументов в пользу предположения, что род *Xamilenis* монофилетичен. В тоже время для вида *X. acaulis* отмечен полиморфизм последовательностей ITS, различия выявлены между группой американских/чукотских растений и европейских, что согласуется с имеющимися наблюдениями о различиях между европейскими и северо-пацифическими/американскими растениями по морфологическим признакам (Арктическая флора, 1971). На филогенетическом дереве, построенном по последовательностям низкокопийного ядерного гена РНК-полимеразы (Petri et al., 2013) *X. acaulis* и *X. dinarica* оказываются в одной кладе, однако на этом дереве только два представителя *X. acaulis*, что может не отражать внутривидовой полиморфизм, и нет других близких по ITS и хпДНК видов смолёвок.

Наиболее близок к *Xamilenis* оказывается подрод *Siphonomorpha* рода *Silene*. Молекулярные данные поддерживают включение *X. acaulis*, *X. exscapa* и *X. dinarica* в род *Silene*, как это делает ряд авторов (Oxelman et al., 2013 — для всех, Лазьков, 2002 — для *X. dinarica*). Наши данные не подтверждают гипотезу о близости *Xamilenis* к роду *Elisanthe*. Род *Viscaria* попадает в одну кладу с *Xamilenis* по хпДНК, но в разные — по ITS. Это может быть связано с событиями межвидовой отдаленной гибридизации, которые имели место в эволюции *Sileneae*. Аналогичная ситуация с сибирским видом *S. jennisensis* — на деревьях ITS и *trnL* он располагается в разных кладах, это может говорить о гибридном происхождении.

Данные молекулярной филогении по ядерному фрагменту ITS и интрону хлоропластного гена *trnL*, сравнение содержания GC и анализу синапоморфных инделей/полиморфных участков свидетельствуют в пользу включения представителей *Xamilenis* в род *Silene*.

Особую благодарность авторы выражают коллегам, предоставившим гербарный материал для исследований (табл. 1), а также сотрудникам гербариев, обеспечившим доступ к фондам.

Работа выполнялась при поддержке гранта РФФИ 12-04-31524.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арктическая флора СССР. (1971) Выпуск VI: семейства Caryophyllaceae-Ranunculaceae под ред. А. И. Толмачёва. Л.: Наука.
2. Конспект флоры Кавказа. (2012) Том 3, часть 2. под ред. А. Л. Тахтаджяна. М., СПб.: Товарищество научных изданий КМК.
3. Лазьков Г. А. (2002) Род *Silene* L. (Caryophyllaceae) во Флоре Евразии (систематика, распространение, история). Дисс... докт. биол. наук. СПб. Доступ в научной библиотеке БИН РАН.
4. Михайлова Ю. В., Гусарова Г. Л., Брехман К. (2009) Молекулярная изменчивость и филогеография смолёвки бесстебельной *Silene acaulis* (L.) Jacq. (Caryophyllaceae) на севере Европы и архипелаге Шпицберген. Экологическая генетика. Т. 8 (3): С. 52–60.
5. Цвелёв Н. Н. (2001) О родах трибы смолёвковых (*Sileneae* DC., Caryophyllaceae) в Восточной Европе. Новости систематики высших растений. Т. 33: С. 90–113.
6. Флора Восточной Европы (2004) том XI под ред. Н. Н. Цвелёва. М., СПб.: Товарищество научных изданий КМК.
7. Флора СССР (1936) том VI под ред. Б. К. Шишкина. М.: Издательство Академии Наук СССР.
8. Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J. et al. (2005) GenBank. Nucleic Acids Research. V. 33 (Database issue): D34–D38.
9. Burleigh J. G., Holtsford T. P. (2003) Molecular Systematics of the Eastern North American *Silene* (Caryophyllaceae): evidence from nuclear ITS and chloroplast *trnL* intron sequences. *Rhodora*. V. 105: P. 76–90.
10. Doyle J. J., Doyle J. L. (1987) A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* V.19: P. 11–15.
11. EMBL-EBI MAFFT. Cited 4.06.2014. URL: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mafft/>.
12. Eggens F., Popp M., Nepokroeff M. et al. (2007) The origin and number of introductions of the Hawaiian

- endemic *Silene* species (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* V. 94: P. 210–218.
13. Frajman B., Eggens F., Oxelman B. (2009a) Hybrid origin and homoploid reticulate evolution within *Heliosperma* (*Sileneae*, Caryophyllaceae) — a multigene phylogenetic approach with relative dating. *Systematic Biology*. V. 58: P. 328–345.
 14. Frajman B., Heidari N., Oxelman B. (2009b) Phylogenetic relationships of *Atocion* and *Viscaria* (*Sileneae*, Caryophyllaceae). *Taxon*. V. 58: P. 811–824.
 15. GeneBank Cited 4.06.2014. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.
 16. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*. V. 17: P. 754–755.
 17. Ingvarsson P.K., Ribstein S., Taylor D.B. (2003) Molecular evolution of insertion and deletion in the chloroplast genome of *Silene*. *Molecular Biology and Evolution*. V. 20: P. 1737–1740.
 18. Katoh K., Toh H. (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in bioinformatics*. V. 9: P. 286–298.
 19. Keane T.M., Creevey C.J., Pentony M.M. et al. (2006) Assessment of methods for amino acid matrix selection and their use on empirical data shows that ad hoc assumptions for choice of matrix are not justified. *BMC Evolutionary Biology*. V. 6: P. 29.
 20. Kim E.S., Bolsheva N.L., Samatadze T.E. et al. (2009) The unique genome of two-chromosome grasses *Zingeria* and *Colpodium*, its origin, and evolution. *Russian J. of Genetics*. V. 45 (11): P. 1329–1337.
 21. McWilliam H., Li W., Uludag M. et al. (2013) Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. *Nucleic Acids Research*. V. 41 (Web Server issue): P. W597–600.
 22. Otth (1824) *Silene*. In DeCandolle A., editor. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. Pars 1. Paris, Strasbourg, London.
 23. Oxelman B., Liden M. (1995) Generic boundaries in the tribe *Sileneae* (Caryophyllaceae) as inferred from nuclear rDNA sequences. *Taxon*. V. 44: P. 525–542.
 24. Oxelman B., Liden M., Berglund D. (1997) Chloroplast rps16 intron phylogeny of the tribe *Sileneae* (Caryophyllaceae). *Plant Systematics and Evolution*. V. 206: P. 393–410.
 25. Oxelman B., Rautenberg A., Thollessen M. et al. (2013) *Sileneae* taxonomy and systematics. Cited 4.06.2014. URL: www.sileneae.info
 26. Pennel F.W. (1921) “Unrecorded” genera of Rafinesque — I. *Auticon Botanicon* (1840). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. V. 48 (3): P. 89–96.
 27. Petri A., Pfeil B.E., Oxelman B. (2013) Introgressive hybridization between anciently diverged lineages of *Silene* (Caryophyllaceae). *PLoS ONE*. V. 8 (7): e67729.
 28. Rafinesque C.S. (1840) *Auticon Botanicon*. Philadelphia.
 29. Rautenberg F., Hathaway L., Oxelman B., Prentice H.C. (2010) Geographic and phylogenetic patterns in *Silene* section *Melandrium* (Caryophyllaceae) as inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. V. 57: P. 978–991.
 30. Ridgway K. P., Duck J.M., Young J.P.W. (2003) Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid *trnL* (UAA) intron. *BMC Ecology*. V. 3: P. 3–8.
 31. Rohrbach P. (1868) *Monographie der Gattung Silene*. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann.
 32. Taberlet P.L., Gielly G., Pautou G., Bouvet J. (1991) Universal primers for amplification of the three non-coding regions of the chloroplast DNA. *Pl. Mol. Biol.* V.17: P. 1105–1109.
 33. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*. V. 28: P. 2731–2739.
 34. Warren L. (2004) *Constantin Samuel Rafinesque: a voice in the American Wilderness*. University Press of Kentucky.
 35. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.I., White T.J., editors. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press; P. 315–322.
 36. Williams F.N. (1896) A revision of the genus *Silene*. *The Journal of the Linnean Society Botany*. V. 32: 1–196.

MOLECULAR PHYLOGENY STUDY OF *XAMILENIS* RAF. RECOGNITION AS THE SEGREGATE GENUS IN THE TRIBE *SILENEAE*

Mikhaylova Y. V., Krapiuskaya E. E., Rodionov A. V.

✿ **SUMMARY: Background.** *Xamilenis* is oligotypic genus recognised in tribe *Sileneae* since 2001. Conception of the *Xamilenis* recognition as small segregate genus was examined by molecular phylogeny methods. **Materials and methods.** We analyzed nuclear (ITS1-5,8S-ITS2) and chloroplast (gene *trnL* intron) sequences obtained from several species of the genus from different localities and compared with other *Sileneae* species. Phylogeny trees were constructed via neighbor joining and bayesian approaches. **Results.** ITS p-distances within *Xamilenis* genus were similar to those between *Xamilenis* and *Silene* species. *Xamilenis* species did not form monophyletic clade in the ITS tree. They were closely related with *Silene* species from subgenus *Siphonomorpha*. Synapomorphic indel-specific for *Xamilenis* were not observed in intron *trnL*. **Conclusion.** Conception *Xamilenis* as the segregate genus is not confirmed by molecular phylogeny data.

✿ **KEY WORDS:** *Sileneae*, *Silene*, *Xamilenis*, ITS, *trnL* intron.

* REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Arkticheskaya flora SSSR [Arctic flora of USSR] (1971) Part. VI: families Caryophyllaceae — Ranunculaceae. Tolmachev A. I., editor. L.: Nauka.
2. Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J. et al. GenBank (2005) Nucleic Acids Research. V. 33 (Database issue): D34–D38.
3. Burleigh J. G., Holtsford T. P. (2003) Molecular Systematics of the Eastern North American *Silene* (Caryophyllaceae): evidence from nuclear ITS and chloroplast *trnL* intron sequences. *Rhodora*. V. 105: P. 76–90.
4. Doyle J. J., Doyle J. L. (1987) A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* V. 19: P. 11–15.
5. EMBL-EBI MAFFT. Cited 4.06.2014. URL: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mafft/>
6. Flora SSSR [Flora of USSR] (1936) Vol. VI Shishkin B. K., editor. Moscow: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR.
7. Flora Vostochnoy Evropy [Flora of Eastern Europe] (2004) Vol. XI. Tzvelev N. N., editor. Moscow, Saint Petersburg: KMK Scientific Press Ltd.
8. Frajman B., Eggens F., Oxelman B. (2009a) Hybrid origin and homoploid reticulate evolution within *Heliosperma* (*Sileneae*, Caryophyllaceae) — a multigene phylogenetic approach with relative dating. *Systematic Biology*. V. 58: P. 328–345.
9. Frajman B., Heidari N., Oxelman B. (2009b) Phylogenetic relationships of *Atocion* and *Viscaria* (*Sileneae*, Caryophyllaceae). *Taxon*. V. 58: P. 811–824.
10. GeneBank Cited 4.06.2014. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.
11. Huelsenbeck J. P., Ronquist F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*. V. 17: P. 754–755.
12. Ingvarsson P. K., Ribstein S., Taylor D. B. (2003) Molecular evolution of insertion and deletion in the chloroplast genome of *Silene*. *Molecular Biology and Evolution*. V. 20: P. 1737–1740.
13. Katoh K., Toh H. (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in bioinformatics*. V. 9: P. 286–298.
14. Keane T. M., Creevey C. J., Pentony M. M. et al. (2006) Assessment of methods for amino acid matrix selection and their use on empirical data shows that ad hoc assumptions for choice of matrix are not justified. *BMC Evolutionary Biology*. V. 6: P. 29.
15. Kim E. S., Bolsheva N. L., Samatadze T. E. et al. (2009) The unique genome of two-chromosome grasses *Zingeria* and *Colpodium*, its origin, and evolution. *Russian J. of Genetics*. V. 45 (11): P. 1329–1337.
16. Konspekt flory Kavkaza [A compendium of Caucasus flora] (2012). V. 3, part 2. Takhtajan A. L., editor. Saint Petersburg: KMK Scientific Press Ltd.
17. Lazkov G. A. (2002) Rod *Silene* L. (Caryophyllaceae) vo flore Evrazii (sistematika, rasprostranenie, istorija) [Genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) in Eurasian flora (systematics, spread, history)]. Thesis for a Doctor's degree in biology. Saint Petersburg. Available at the library of Komarov Botanical Institute RAS.
18. McWilliam H., Li W., Uludag M. et al. (2013) Analysis Tool Web Services from the EMBL-EBI. *Nucleic Acids Research*. V. 41 (Web Server issue): P. W597–600.
19. Mikhaylova Y. V., Gussarova G. L., Brochmann C. (2009) Molekulyarnaya izmenchivost' i filogeografiya smolevki besstebel'noy *Silene acaulis* (L.) Jacq. (*Caryophyllaceae*) na severe Evropy i arhipelage Shpitsbergen. [Molecular variation and phylogeography of the moss campion *Silene acaulis* (L.) Jacq. (*Caryophyllaceae*) in the north of Europe and the Svalbard archipelago] *Ecologogicheskaya genetika*. V. 8 (3): P. 52–60.
20. Otth (1824) *Silene*. In DeCandolle A., editor. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. Pars 1. Paris, Strasbourg, London.
21. Oxelman B., Liden M., Berglund D. (1997) Chloroplast *rps16* intron phylogeny of the tribe *Sileneae* (Caryophyllaceae). *Plant Systematics and Evolution*. V. 206: P. 393–410.
22. Oxelman B., Liden M. (1995) Generic boundaries in the tribe *Sileneae* (Caryophyllaceae) as inferred from nuclear rDNA sequences. *Taxon*. V. 44: P. 525–542.
23. Oxelman B., Rautenberg A., Thollesson M. et al. (2013) *Sileneae* taxonomy and systematics. Cited 4.06.2014. URL: www.sileneae.info.
24. Pennel F. W. (1921) “Unrecorded” genera of Rafinesque — I. *Auticon Botanicon* (1840). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. V. 48 (3): P. 89–96.
25. Petri A., Pfeil B. E., Oxelman B. (2013) Introgressive hybridization between anciently diverged lineages of *Silene* (Caryophyllaceae). *PLoS ONE*. V. 8 (7): e67729.
26. Rafinesque C. S. (1840) *Auticon Botanikon*. Philadelphia.
27. Rautenberg F., Hathaway L., Oxelman B., Prentice H. C. (2010) Geographic and phylogenetic patterns in *Silene* section *Melandrium* (Caryophyllaceae) as inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. V. 57: P. 978–991.
28. Ridgway K. P., Duck J. M., Young J. P. W. (2003) Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid *trnL* (UAA) intron. *BMC Ecology*. V. 3: P. 3–8.
29. Rohrbach P. (1868) *Monographie der Gattung Silene*. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann.
30. Taberlet P. L., Gielly G., Pautou G., Bouvet J. (1991) Universal primers for amplification of the three non-

- coding regions of the chloroplast DNA. *Pl. Mol. Biol.* V. 17: P. 1105–1109.
31. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution.* V. 28: P. 2731–2739.
 32. Tzvelev N. N. (2001) O rodakh triby smolevkovykh (*Sileneae* DC., Caryophyllaceae) в в Vostochnoy Evrope [About genres of tribe *Sileneae* DC. (Caryophyllaceae) in the East Europe]. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy.* V. 33: P. 90–113.
 33. Warren L. (2004) Constantin Samuel Rafinesque: a voice in the American Wilderness. University Press of Kentucky.
 34. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. I., White T. J., editors. *PCR protocols: a guide to methods and applications.* San Diego: Academic Press; P. 315–322.
 35. Williams F. N. (1896) A revision of the genus *Silene*. *The Journal of the Linnean Society Botany.* V. 32: 1–196.

✿ Информация об авторах

Михайлова Юлия Владимировна — м. н. с., лаборатория цитологии и биосистематики. Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук. 193022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2. E-mail: mjulka@gmail.com.

Крапивская Елена Евгеньевна — ведущий инженер, лаборатория цитологии и биосистематики. Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук. 193022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2. E-mail: krapivskaja@rambler.ru.

Родионов Александр Викентьевич — д. б. н., зав. лабораторией, профессор, лаборатория цитологии и биосистематики. Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук. 193022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2. E-mail: avrodionov@mail.ru.

Mikhaylova Yulia Vladimirovna — junior researcher, Laboratory of Biosystematics and Cytology. Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences. 193022, Saint Petersburg, Professora Popova St., 2, Russia. E-mail: YMikhaylova@binran.ru.

Krapivskaya Elena Evgen'yevna — leading engineer, Laboratory of Biosystematics and Cytology. Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences. 193022, Saint Petersburg, Professora Popova St., 2, Russia. E-mail: krapivskaja@rambler.ru.

Rodionov Aleksandr Vikent'yevich — head of the laboratory, professor, Doctor of Biological Science, Laboratory of Biosystematics and Cytology. Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences. 193022, Saint Petersburg, Professora Popova St., 2, Russia. E-mail: avrodionov@mail.ru.