

Подход к сравнительно-морфологическому анализу спор представителей семейства Pteridaceae E. D. M. Kirchn. (Pteridophyta) на основе данных филогенетического родства

The approach to the comparative morphological analysis of spores of the Pteridaceae E. D. M. Kirchn family representatives (Pteridophyta) based on phylogenetic relationship data

Ваганов А. В., Скапцов М. В., Когтев Д. И.

Vaganov A. V., Skaptsov M. V., Kogtev D. I.

*Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия. E-mail: vaganov_vav@mail.ru.
Altai State University, Barnaul, Russia*

Реферат. В работе представлен результат применения сравнительно-морфологического анализа спор представителей трех подсемейств семейства Pteridaceae E. D. M. Kirchn. (Cryptogrammoideae S. Linds., Pteridoideae C. Chr. ex Crabbe, Jermy a. Mickel, Ceratopteridoideae (J. Sm.) R. M. Tryon) методом эволюционной биологии в модульной программной среде Mesquite. Данный подход позволяет детально сопоставить стандартизованные качественные признаки морфологии спор с данными о филогенетическом родстве представителей, что в итоге способствует выявлению внутри- и межтаксономических групп родства, поиску эволюционных связей, получению новых знаний для решения проблем в таксономии папоротников. Полученные данные позволяют дополнять естественную классификацию семейства Pteridaceae.

Ключевые слова. ДНК, морфология, молекулярная филогения, папоротники, систематика, сканирующая электронная микроскопия, эволюция растений, *Ceratopteridoideae*, *Cryptogrammoideae*, Pteridaceae, *Pteridoideae*.

Summary. The work presents the result of using comparative morphological analysis of spore of three subfamilies from the family Pteridaceae E. D. M. Kirchn. (Cryptogrammoideae S. Linds., Pteridoideae C. Chr. ex Crabbe, Jermy a. Mickel, Ceratopteridoideae (J. Sm.) R. M. Tryon) by evolutionary biology method by Mesquite software. This approach allows comparing in detail the standardized qualitative features of the morphology of spores with the data on phylogenetic relationship of representatives, which as a result helps to identify intra- and intertaxonomic groups of relationship, to search for evolutionary connections, to obtain new knowledge for solving problems in fern taxonomy. Obtained data allow supplement natural classification of the Pteridaceae family.

Key words. *Ceratopteridoideae*, *Cryptogrammoideae*, DNA, ferns, molecular phylogeny, plant evolution, Pteridaceae, *Pteridoideae*, scanning electron microscopy, spore morphology, taxonomy.

Введение. Комплексные работы последних лет по крупным таксономическим группам папоротников все чаще подтверждают согласованность морфологических признаков спор с результатами молекулярно-филогенетических исследований (Zhang et al., 2015; Schuettpelez et al., 2016; Chao, Huang, 2018). Следовательно, ультраструктурные признаки спор папоротников, при своей большей эволюционной стабильности относительно внешних морфологических признаков (Ваганов и др., 2017), могут использоваться для выявления родственных связей между таксонами, наряду с филогенетическими данными.

В современный период морфологических исследований в ботанике микроснимки спор, получаемые электронно-ионно-сканирующими микроскопами, стали более информативными и детальными. Современная сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) – это точный метод глубокого анализа признаков на микроуровне, позволяющая получать объективные и взвешенные решения проблем в систематике сложных групп растений.

Общими признаками морфологии спор, которые характерны для представителей подсемейств *Cryptogrammoideae* S. Linds., *Pteridoideae* C. Chr. ex Crabbe, Jermy a. Mickel и *Ceratopteridoideae* (J. Sm.) R. M. Tryon семейства Pteridaceae E. D. M. Kirchn являются: споры тетраэдрической формы до трилетно-округлых, лучей лезуры три – прямые, экзоспорий четко выраженный без выростов (Ваганов и др., 2014; Vaganov, 2016; Vaganov et al., 2017).

Материалы и методы. Подробные описания морфологии спор, полученные в предыдущих работах по представителям семейства Pteridaceae методом СЭМ (Vaganov, 2016; Vaganov et al., 2017, 2018, 2020), позволили нам подготовить таблицу со стандартизованными признаками представителя трех подсемейств семейства Pteridaceae. В данном исследовании нами умышленно не используются мерные признаки спор (экваториальный диаметр, полярная ось, длина и ширина лезуры) ввиду фокуса исследования на качественных признаках представителей семейства. В таблицу качественных признаков были внесены 41 таксон, из имеющихся в Генбанке, по девяти стандартизованным признакам, которые наиболее полно характеризуют морфологию спор представителей семейства Pteridaceae (табл. 1).

Таблица 1

Качественные признаки морфологии спор представителей семейства Pteridaceae в стандартизованном виде

№	Таксон	1*	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	<i>Acrostichum aureum</i> L.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
2.	<i>Acrostichum speciosum</i> Willd.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
3.	<i>Actiniopteris australis</i> (L. f.) Link	0	0	1	0	0	1	1	0	1
4.	<i>Actiniopteris dimorpha</i> Pic. Serm.	1	0	1	0	0	1	0	0	1
5.	<i>Actiniopteris radiata</i> Link	0	0	1	0	0	1	0	0	1
6.	<i>Actiniopteris semiflabellata</i> Pic. Serm.	0	0	1	0	0	1	0	0	1
7.	<i>Anogramma leptophylla</i> (L. f.) Link	1	0	1	1	0	1	1	1	0
8.	<i>Ceratopteris pteridoides</i> Underw.	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9.	<i>Ceratopteris thalictroides</i> (L.) Brongn.	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10.	<i>Cerosora microphylla</i> (Hook.) R. M. Tryon	0	0	0	1	1	1	0	0	1
11.	<i>Coniogramme fraxinea</i> (Don) Diels	0	0	0	0	0	1	1	0	0
12.	<i>Coniogramme intermedia</i> Hieron.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
13.	<i>Coniogramme japonica</i> (Thunb.) Diels	0	0	0	0	0	1	1	0	0
14.	<i>Cryptogramma acrostichoides</i> R. Br.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
15.	<i>Cryptogramma brunoniana</i> Wall. ex Hook.	1	0	0	0	0	1	1	0	0
16.	<i>Cryptogramma cascadiensis</i> E. R. Alverson	0	0	0	0	0	1	1	0	0
17.	<i>Cryptogramma crispa</i> (L.) Bernh.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
18.	<i>Cryptogramma raddeana</i> Fomin	0	0	0	0	0	1	1	0	0
19.	<i>Cryptogramma sitchensis</i> (Rupr.) T. Moore	0	0	0	0	0	1	1	0	0
20.	<i>Cryptogramma stelleri</i> (S. G. Gmel.) Prantl	0	0	0	0	0	1	1	0	0
21.	<i>Llavea cordifolia</i> Lag.	0	0	0	0	0	1	1	0	0
22.	<i>Onychium contiguum</i> C. Hope	1	0	1	0	0	1	1	1	1
23.	<i>Onychium ipii</i> Ching.	1	0	1	1	0	1	1	0	1
24.	<i>Onychium japonicum</i> (Thunb.) Kunze	1	0	1	0	0	1	1	1	1
25.	<i>Onychium lucidum</i> Spreng.	1	0	1	0	0	1	1	1	1
26.	<i>Onychium moupinense</i> Ching	1	0	1	0	0	1	1	1	1
27.	<i>Onychium plumosum</i> Ching	1	0	1	0	0	1	1	1	1
28.	<i>Onychium siliculosum</i> (Desv.) C. Chr.	1	0	1	0	0	1	0	1	1
29.	<i>Pityrogramma calomelanos</i> (L.) Link	1	0	1	1	1	0	1	1	0
30.	<i>Pteris aspericaulis</i> Wall.	0	1	0	1	0	1	1	0	1
31.	<i>Pteris biaurita</i> L.	0	1	1	0	0	1	1	0	1
32.	<i>Pteris chilensis</i> Desv.	1	0	1	1	1	1	0	1	0

Таблица 1 (окончание)

№	Таксон	1*	2	3	4	5	6	7	8	9
33.	<i>Pteris cretica</i> L.	1	0	0	0	0	0	0	0	1
34.	<i>Pteris ensiformis</i> Burm. f.	0	0	1	0	0	1	1	0	0
35.	<i>Pteris finotii</i> Christ	1	0	1	0	0	1	1	0	1
36.	<i>Pteris henryi</i> Christ	1	0	1	0	0	1	0	0	1
37.	<i>Pteris semipinnata</i> L.	0	1	1	0	0	1	1	0	1
38.	<i>Pteris umbrosa</i> R. Br.	1	0	1	0	0	1	0	0	1
39.	<i>Pteris vittata</i> L.	1	0	1	1	0	0	1	0	1
40.	<i>Pteris wallichiana</i> C. Presl	1	0	1	0	0	1	1	0	1
41.	<i>Taenitis blechnoides</i> (Willd.) Sw.	0	0	0	0	0	1	1	0	0

Примечание*: наличие признака отмечено 1, отсутствие – 0: 1 – валики вдоль лучей лезур; 2 – бугорки вдоль лучей лезур; 3 – экваториальная борозда; 4 – экваториальная борозда на проксимальной стороне; 5 – экваториальная борозда на дистальной стороне; 6 – бугорки на проксимальной стороне; 7 – бугорки на дистальной стороне; 8 – складки на дистальной стороне; 9 – складки на проксимальной стороне.

Для проведения модульного эволюционного анализа по стандартизованным признакам морфологии спор папоротников семейства Pteridaceae нами использовалась программная среда Mesquite 3.61 (Maddison & Maddison, 2018). Mesquite был выбран ввиду наличия множества возможностей для управления данными любой категории. Программа имеет редактор для редактирования таблиц с качественными признаками и данными последовательностей ДНК, которые можно объединять на едином филогенетическом дереве. Последовательности ДНК на основе фрагментов гена «*rbcL*» были получены с генбанка NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (табл. 2). Последовательность ДНК по гену «*rbcL*» *Polypodium vulgare* L. был использован в качестве внешней группы («out group»). Последовательности ДНК («*rbcL*») были проанализированы в Mesquite с максимальным количеством деревьев – 10000 (модель эволюции ДНК «Jukes Cantor distance», «maximum likelihood (ML)»). Все последовательности были выровнены с использованием ClustalX 2.1 (Larkin et al., 2007), итоговая матрица отредактирована в ручном режиме так, чтобы отсутствовали какие-либо вставки или делеции (indels).

Далее стандартизованные признаки морфологии спор были спроецированы на филогенетические деревья (троссирование таблицы ДНК последовательностей с таблицей качественных признаков). Филогенетические деревья были экспортированы в формате PDF и графически проиллюстрированы в Paint.net.

Результаты. Конечное филогенетическое дерево родства с проекцией стандартизованных признаков морфологии спор представителей семейства Pteridaceae из подсемейств Cryptogrammoideae, Pteridoideae и Ceratopteridoideae, построенное с помощью Байесовской вероятности в Mesquit, показано на рисунке 1.

При детальном анализе полученного нами филогенетического дерева, можно утверждать, что наличие валиков на поверхности споры, присуще в основном роду *Onychium*, а также наблюдается ряда представителей рода *Pteris*, фрагментарно также у прочих представителей семейства – *Cryptogramma brunoriana*, *Anogramma leptophylla*, *Pityrogramma calomelanos* и *Actiniopteris dimorpha*. При этом, наличие абсолютно у всех таксонов *Onychium* данного признака позволят подтвердить таксономическую близость представителей данного рода к *Pteris*. Данный вывод согласуется с результатами, полученными в работе по *Pteris* других научных коллективов (Zhang et al., 2015; Palacios-Rios et al., 2016). Наличие бугорков вдоль лезуры наблюдается только у представителей рода *Pteris*, у других представителей данного признака не наблюдается. Наличие экваториальной борозды в основном присуща роду *Pteris*, *Onychium* с *Actiniopteris*, фрагментарно – *Anogramma leptophylla* и *Pityrogramma calomelanos*. Данный признак позволяет подтвердить близкородственность клады «*Onychium* clade» (вкл. род *Actiniopteris*) с *Pteris*, а также принадлежность всех перечисленных таксонов к одному подсемейству *Pteridoideae*. При этом, уставлен признак, который наблюдается только у представителей подсемейства *Pteridoideae* – на-

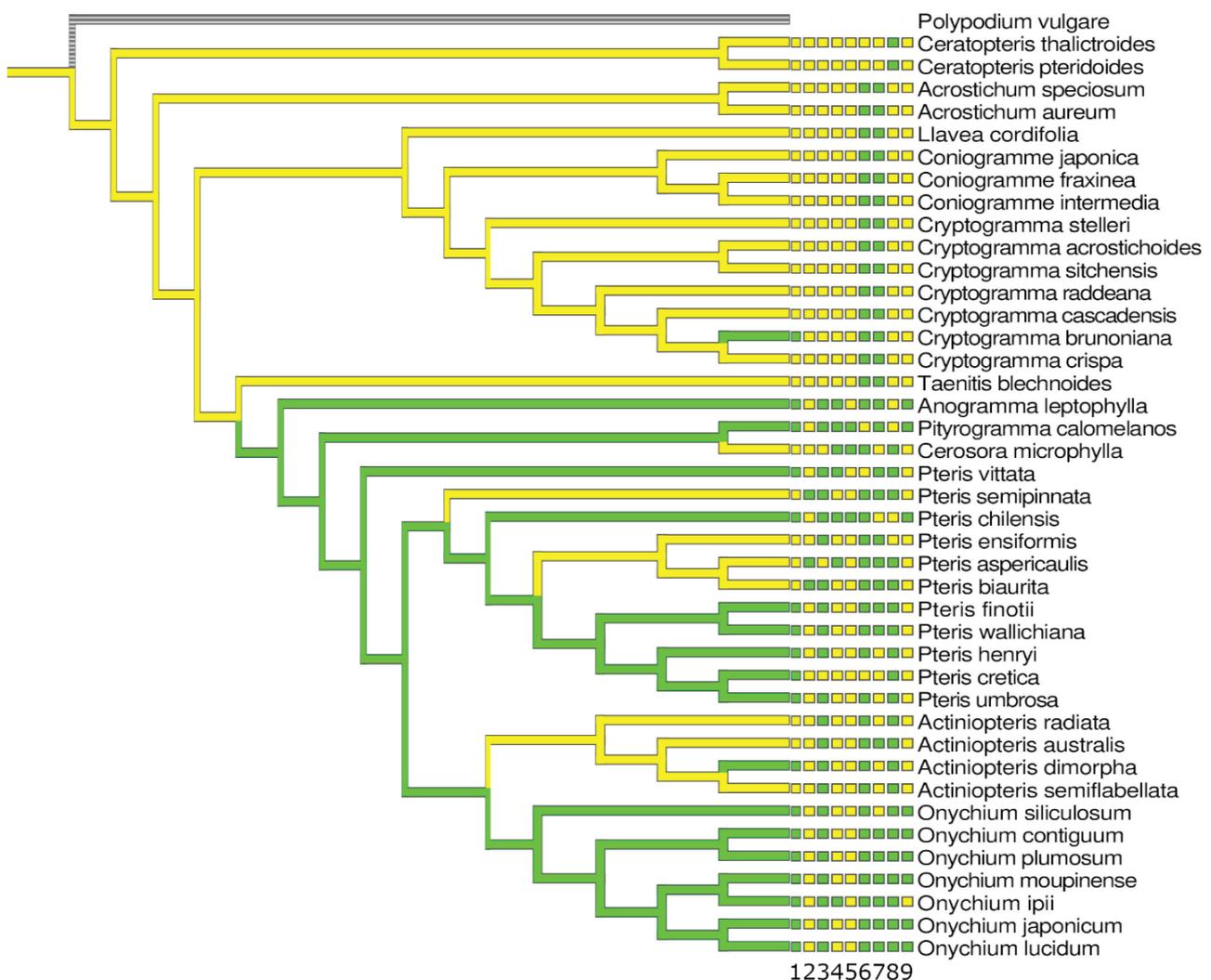


Рис. 1. Филогенетическое дерево родства представителей подсемейств Cryptogrammoideae, Pteridoideae и Ceratopteridoideae семейства Pteridaceae, построенное на основе «rbcL» фрагментов хлоропластной ДНК с проекцией стандартизованных признаков мофологии спор. Признаки мофологии спор (желтый цвет – отсутствует, зеленый – присутствует): 1 – валики вдоль лучей лезур; 2 – бугорки вдоль лучей лезур; 3 – экваториальная борозда; 4 – экваториальная борозда на проксимальной стороне; 5 – экваториальная борозда на дистальной стороне; 6 – бугорки на проксимальной стороне; 7 – бугорки на дистальной стороне; 8 – складки на дистальной стороне; 9 – складки на проксимальной стороне.

личие экваториальной борозды на проксимальной стороне, он наблюдается у *Anogramma leptophylla*, *Pityrogramma calomelanos*, *Cerosora microphylla*, *Pteris chilensis*, *Pteris vitata*, *Pteris aspericaulis* и *Onychium ipii*. С другой стороны, признак наличия экваториальной борозды на дистальной стороне слабо распространен у представителей исследуемого семейства и наблюдается только у *Pityrogramma calomelanos*, *Cerosora microphylla* и *Pteris chilensis*. Обратная ситуация возникает по поводу наличия бугорков на проксимальной и дистальной сторонах спор, которые присутствуют у большинства исследуемых таксонов семейства. Это свидетельствует о том, что наличие бугорков на поверхности экзоспория является признаком, который характеризует почти всех представителей семейства. Бугорки на поверхности экзоспория отсутствуют полностью у рода *Ceratopteris* и частично у родов *Pteris*, *Actiniopteris*, *Pityrogramma* и *Cerosora*. Складки на дистальной стороне наблюдаются в основном у представителей подсемейств *Pteridoideae* и рода *Ceratopteris*, не встречаются у представителей подсемейства *Crypto-*

grammoideae. При этом, складки на проксимальной стороне встречаются у всех *Onychium* (кроме *O. ipii*) и отсутствуют у родов *Cryptogrammoideae*. Общим результирующим выводом сравнительно-морфологического анализа спор по филогенетическому родству можно считать оправданность выделения клады «*Cryptogrammoid clade*» с родами *Cryptogramma*, *Coniogramme* и *Llavea* в семействе. Для всех представителей данной клады и одноименного подсемейства, из всего числа стандартизованных признаков семейства Pteridaceae, отмечено однозначное присутствие только двух признаков – бугорков на проксимальной и на дистальной сторонах споры. Наиболее близкими по структуре морфологии спор к подсемейству *Cryptogrammoideae* в семействе Pteridaceae являются представители подсемейства *Ceratopteridoideae*.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FZMW-2020-0003).

ЛИТЕРАТУРА

- Chao Y.-S., Huang Y.-M.** Spore morphology and its systematic implication in Pteris (Pteridaceae) // PLoS ONE, 2018. – 13 (11) e0207712. DOI: 10.1371/journal.pone.0207712
- Larkin M. A., Blackshields G., Brown N. P., Chenna R., McGettigan P. A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I. M., Wilm A., Lopez R., Thompson J. D., Gibson T. J., Higgins D. G.** Clustal W and Clustal X version 2.0 // Bioinformatics, 2007. – Vol. 23. – P. 2947–2948. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>.
- Maddison W., Maddison D.** Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.6. <https://mesquiteproject.wikispaces.com> (accessed 10 May 2020).
- Palacios-Rios M., Prada C., Gabriel J. M., Galán Y., Noa J.** Spore types in Mexican and Mesoamerican species of Pteris L. (Pteridaceae) // Grana, 2017. – Vol. 56, № 4. – P. 241–256. DOI: 10.1080/00173134.2016.1217038
- PPG I.** A community-derived classification for extant lycophytes and ferns // Journal of Systematics and Evolution, 2016. – Vol. 54, № 6. – P. 563–603. DOI: 10.1111/jse.12229
- Vaganov A. V., Gureyeva I. I., Shmakov A. A., Kuznetsov A. A., Romanets R. S.** Spore morphology of *Taenitis*, *Syngramma* and *Austrogramme* species (Pteridoideae, Pteridaceae) from South-Eastern Asia // Turczaninowia, 2018. – Vol. 21, № 3. – P. 5–11. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.3.1
- Vaganov A. V., Gureyeva I. I., Kuznetsov A. A., Shmakov A. I., Romanets R. S.** Spore morphology of the representatives of the subfamily Ceratopteridoideae (J. Sm.) R. M. Tryon from the family Pteridaceae E. D. M. Kirchn. (Pteridophyta) // Ukrainian Journal of Ecology, 2017. – Vol. 7, № 2. – P. 124–129. DOI: 10.15421/2017_29
- Vaganov A. V.** A comparative study of spore morphology of the subfamily *Cryptogrammoideae* genera // Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University, 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 333–346. DOI: 10.15421/2016103
- Vaganov A. V., Metzgar J. S., Sinitsyna T. A., Shmakov A. I.** Comprehensive analysis of *Actiniopteris* Link and *Onychium* Kaulf. (Pteridophyta) relationships according to their phylogeography, phylogeny and spore morphology // Pytotaxa, 2020. – Vol. 441, № 1. P. 1–18. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.441.1.1>.
- Zhang L., Rothfels C. J., Ebihara A., Schuettpelz E., Pechon T. Le, Kamau P., He H., Zhou X.-M., Prado J., Field A., Yatskievych G., Gao X.-F., Zhang L.-B.** A global plastid phylogeny of the brake fern genus *Pteris* (Pteridaceae) and related genera in the Pteridoideae // Cladistics, 2015. – Vol. 31. – P. 406–423. DOI: 10.1016/j.ymp.2017.09.011
- Ваганов А. В., Гуреева И. И., Шмаков А. И., Кузнецов А. А., Романец Р. С., Кёниг В. А.** Морфология спор *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link (Pteridaceae) // Turczaninowia, 2017. – Т. 20, № 3. – С. 95–102. DOI: 10.14258/turczaninowia.20.3.9
- Ваганов А. В., Шалимов А. П., Шауло Д. Н.** Морфология спор некоторых представителей подсемейства *Pteridoideae* семейства Pteridaceae // Растительный мир Азиатской России, 2014. – № 2(14). – С. 29–36.