

**Р. В. Камелин и И. Сояк о систематике секции *Multifidae* рода *Potentilla*:
могут ли молекулярные данные разрешить их спор?**

**Taxonomy of *Potentilla* sect. *Multifidae* in opinion of R. V. Kamelin and J. Soják:
can their opposition be resolved with molecular data?**

Шанцер И. А., Федорова А. В.

Schanzer I. A., Fedorova A. V.

Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, г. Москва, Россия. E-mail: ischanzer@gmail.com; alina_77777@mail.ru
Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Реферат. Исследование небольшой выборки видов, родственных *Potentilla multifida*, молекулярно-филогенетическими методами с использованием ядерных маркеров ITS позволило в нескольких случаях прояснить ряд спорных вопросов, связанных с оценкой их родства и происхождения.

Ключевые слова. Р. В. Камелин, систематика, филогения, ITS, J. Soják, *Multifidae*, *Potentilla*.

Summary. In a study of a small sample of species related to *Potentilla multifida* we managed to clarify several disputable cases of relations and origin assessments using nr ITS based maximum likelihood phylogenetic tree.

Key words. ITS, J. Soják, *Multifidae*, phylogeny, *Potentilla*, R. V. Kamelin, taxonomy.

Рудольф Владимирович Камелин (12.08.1938–1.04.2016) и Иржи Сояк (13.05.1936–17.10.2012) придерживались во многом противоположных и непримиримых взглядов на систематику рода лапчатка (*Potentilla* L.). Они не соглашались друг с другом даже по проблеме определения границ рода. Трудно сказать, были ли они знакомы лично, вероятно, да, так как Сояк работал в Гербарии БИН и был, несомненно, лично знаком с Б. А. Юрцевым, которого очень уважал как специалиста по арктическим лапчаткам и нередко следовал его мнению в трактовке арктических видов (Soják, 2004). Отношения с Р. В. Камелиным у них сложились иначе. Надо сказать, что Р. В. никогда не был систематиком, узко специализировавшимся на какой-то одной группе растений. Его занятия систематикой были всегда производны от флористических исследований. География растений и сравнительная флористика, вопросы флорогенеза, вот вопросы, которые волновали Р. В. в первую очередь. В вопросах же собственно систематики взгляды Камелина можно в значительной мере охарактеризовать, как типологические, причем неким идеалом систематика он видел, несомненно, К. Линнея и, одновременно, будучи горячим сторонником комаровской концепции вида (Камелин, 2004). И. Сояк, напротив, был практически «чистым» систематиком, с достаточно узким пониманием видов и много работавшим над изучением гибридизации у лапчаток, в т. ч. и экспериментально. Род *Potentilla* стал основным предметом его исследований на всю жизнь, хотя он внес определенный вклад и в изучение других, весьма различных таксономических групп, таких как Asteraceae, Brassicaceae и Polygonaceae. Это, несомненно, наложило отпечаток на подходы к оценке значимости морфологических признаков для систематики лапчаток у обоих исследователей.

Противоречия в точках зрения Р. В. Камелина и И. Сояка на систематику лапчаток мы рассмотрим на примере секции *Multifidae*. Здесь они начинаются уже с приоритетного названия секции, собственно чисто номенклатурного вопроса. Р. В. Камелин (2001) во «Флоре Восточной Европы» указывает его как *Multifidae* Rydb. 1896, Bull. Torr. Bot. Club: 262, в то время как Сояк (Soják, 2005) указывает, что валидным приоритетным названием следует считать *Pensylvanicae* Poeperl. in Asch. et Graebn. 1904. Действительно, Ридберг (Rydberg, 1896) говорит лишь о безранговой группе (the group *Multifidae*), а во все не о секции. А в номенклатурных вопросах это весьма существенно.

Если рассматривать эту группу в более узком смысле, как *P. multifida* agg. в смысле Сояка (Soják, 2005), то здесь противоречия в трактовках выявляются наиболее ярко. Камелин (2001) критикует взгляды Сояка в примечании к *P. hypoleuca* Turcz., в синонимы которой он относит *P. tergemina* Soják. Перечислив целый ряд гибридогенных видов, описанных Сояком, таких как *P. bimundorum* Soják, *P. anachoretica* Soják, *P. rubricaulis* Lehm. и др., он приходит к выводу, что «...в результате этих работ И. Сояка круг замкнулся, и понимание отдельных рас в родстве *P. multifida* стало невозможным. Ведь гибридогенную комбинацию *P. bimundorum* мы в этом случае должны считать древнейшим типом всей группы». Из самого примечания, надо сказать, остается непонятным, почему это так. Вместе с тем Камелин указывает, что таксономические ошибки Сояка являются результатом «переоценки признака наличия или отсутствия дополнительного опушения прямыми волосками у видов, несущих и настоящее войлочное опушение». Сояк (Soják, 2005) дал очень подробный ответ на все замечания в свой адрес, высказанные Камелиным (2001) во «Флоре Восточной Европы», полностью дезавуировав их и указав Камелину на его собственные ошибки. Так, Сояк пишет, что «удивлен» тем, что «понимание отдельных рас в родстве *P. multifida* стало невозможным» в результате его работ. Он подчеркивает, что «*P. multifida* agg. is not a difficult or a critical group (as for instance *Rectae* or *Niveae*); on the contrary, it is rather simple, presenting no serious problems» и что идентификация *P. multijuga*, *P. tergemina*, *P. bimundorum* и *P. ornithopoda* Tausch не представляет никакого труда. Что касается *P. tergemina* и *P. hypoleuca*, Сояк пишет, что внимательное изучение типовых образцов *P. hypoleuca* в гербариях LE и PR показало идентичность ее с *P. multifida*, а вовсе не с *P. tergemina*, как это утверждает Камелин.

Другой пример категорического несогласия Камелина и Сояка друг с другом – распространение и статус *P. arctica*. Камелин (2001) считал, что этот вид распространен на Кольском полуострове и в Скандинавии, замещая там *P. multifida*. Сояк (Soják, 2005) был с этим категорически не согласен. Он писал, что *P. arctica*, безо всяких сомнений, является локальным эндемиком Кандалакшского залива Белого моря, а *P. multifida* растет на Кольском полуострове и в шведской Лапландии. Более того, Сояк пишет, что признаки, указанные Камелиным в ключе для этой группы, неверны и не позволяют вообще отличить *P. multifida* от остальных видов. Для этой группы он приводит свой вариант ключа.

Не согласны эти два автора оказались и по статусу двух редких эндемичных видов из этой группы, *P. evermanniana* и *P. vulgarica*. Камелин (2001) считал их гибридами, причем первый – гибридогенной расой *P. multifida* ' *P. conferta* Bunge, а второй – гибридогенной расой неясного происхождения, потенциальных родителей которой он указать, видимо, затруднился. Сояк, в свою очередь, считал их несомненными самостоятельными видами, никак не связанными в своем происхождении с гибридизацией. Более того, он пишет, что его экспериментальные скрещивания *P. multifida* и *P. conferta* с разными видами лапчаток никак не подтверждают предположения Камелина о происхождении *P. evermanniana* (Soják, 2005). В данном случае можно, безусловно, согласиться с Сояком и по поводу самого названия *P. evermanniana*. Приводимая Камелиным комбинация *P. evermanniana* Fisch. ex Claus in Goebel является, согласно правилам Кодекса, *nomen nudum*. Валидной комбинацией следует считать *P. evermanniana* Fisch. ex Ledeb., которая и приводится в большинстве других источников.

Во многих случаях, однако, невозможно понять, кто из них в отдельных конкретных случаях прав, без проведения специального исследования.

Наше исследование не было изначально спланировано для тестирования этих противоречий. Мы ставили перед собой вполне конкретные задачи изучения генетической изменчивости двух редких эндемичных видов, *P. vulgarica* Juz. и *P. evermanniana* Fisch. ex Ledeb. (Schanzer et al., 2020). Однако в ходе работы мы столкнулись с необходимостью существенно расширить выборку исследуемых таксонов и попытаться дать ответ, по крайней мере, на некоторые вопросы, существующие в систематике данной группы.

Материал и методы. В наше исследование были включены представители 12 видов секции, в большинстве случаев представленные несколькими образцами из разных частей ареала или небольшими популяционными выборками. Образцы *P. vulgarica* и *P. evermanniana* были собраны нами в природных популяциях в Саратовской области и Башкирии, соответственно, в 2019 г., образцы остальных видов были взяты из гербарных коллекций ГБС РАН (МНА) и МГУ (MW). Кроме двух упомянутых выше видов, в анализ были включены *P. arctica* (15 образцов из нескольких точек побережья и островов Белого моря), *P. anachoretica* (10 образцов с о-ва Врангеля, Магаданской области и Таймыра), *P. agrimonioides* (12 образцов с Северного Кавказа и Алтая), *P. aphanes* Soják (1 образец из южного Таджикистана), *P. jensejensis* (3 образца с Алтая и из Тувы), *P. multifida* (9 образцов с Алтая, Тувы, Красноярского края и Иркутской области), *P. ornithopoda* (3 образца из Хакасии и Читинской области),

P. approximata Bunge (1 образец из Новосибирской области), *P. tergemina* (14 образцов) и *P. verticillaris* (1 образец из Иркутской области).

Полный список изученных образцов, методов молекулярно-генетического исследования, номеров последовательностей ДНК, депонированных в Genbank NCBI, и методов обработки и анализа данных приведены в публикации (Schanzer et al., 2020).

Результаты и обсуждение. Длина объединенного выравнивания двух хлоропластных участков для 115 образцов после окончательной обработки (Schanzer et al., 2020) составила 910 п.н. Выравнивание содержало 56 полиморфных позиций, 19 из которых были парсимонически информативными, 37 позиций были аутопоморфными. Индели были представлены 64 сайтами, которые были исключены из дальнейшего анализа, как отсутствующие данные. Предварительный анализ полученного выравнивания в программе TCS показал, что последовательности многих образцов оказались идентичными, нередко независимо от видовой принадлежности образцов. Программа объединила идентичные последовательности в 40 гаплотипов, объединенных в единую сеть, в которой 12 гаплотипов оказались внутренними, а 28 – концевыми. В результате проведенного анализа мы сократили выравнивание до 48 последовательностей, соответствовавших гаплотипам, причем в тех случаях, когда один и тот же гаплотип был обнаружен у разных видов, сохраняли несколько последовательностей по числу видов. Выравнивание было укрупнено на 7 последовательностей 5 видов лапчаток, взятых из Genbank (Schanzer et al., 2020).

Анализ сокращенного выравнивания проводили методом максимального правдоподобия в программе RAxML ver. 8.2.10 с использованием графического интерфейса raxmlGUI 2.0 beta. Полученное дерево оказалось плохо разрешенным, а последовательности многих образцов расположенными на коротких или нулевой длины ветвях (Schanzer et al., 2020). Большинство видов оказалось представленными несколькими гаплотипами, в целом ряде случаев из разных клад. Это, в особенности, касалось внутренних гаплотипов сети. При этом последовательности *P. nivea* L. (2 образца с Северного Кавказа) также оказались включенными в исследуемую, а не во внешнюю группу. Такой результат свидетельствует о неполной сортировке филогенетических линий в пределах исследуемой группы и говорит о ее относительной молодости и неполной дифференциации на отдельные виды. Этот результат оказался малоинтересным для решения поставленных в данной публикации задач. Поэтому мы не приводим здесь деревьев и сетей, построенных по хлоропластным данным, а всех интересующихся отсылаем к цитированной выше статье.

Иной результат дал анализ ядерных ITS. Этот участок удалось секвенировать только для 48 образцов. К сожалению, в анализ попали только следующие виды: *P. agrimonioides*, *P. anachoretica*, *P. aphanes*, *P. arctica*, *P. evermanniana*, *P. jensejensis*, *P. multifida*, *P. nivea*, *P. ornithopoda*, *P. tergemina* и *P. vulgarica*. Полученные последовательности были неполными, длина их варьировала от 390 до 521 п.н. Длина выравнивания составила 529 п.н., начиная от мотива TTGTCGAA и до мотива GAGGCT(T/-)CC, без значительных по размеру инделей. У 36 образцов исследуемой и 5 из 13 последовательностей внешней группы, присутствовали от 1 до 11 полиморфных позиций, выявленных по двойным пикам на электрофореграммах указывавшие на вероятную гетерозиготность образцов. Так как у нас не было возможности клонировать последовательности ITS, для реконструкции риботипов мы использовали алгоритм PHASE, реализованный в программе DNAsp (Stephens et al., 2001; Stephens, Donnelly, 2003; Rozas et al., 2017). Хотя исследуемые растения вероятнее всего являлись полиплоидами (Schanzer et al., 2020), для целей реконструкции риботипов и дальнейшего анализа мы считали их диплоидами. В результате проведенной реконструкции мы получили выравнивание, в котором каждый индивидуальный образец был представлен двумя последовательностями, соответствовавшими двум аллелям, или риботипам. Выравнивание было проанализировано методом максимального правдоподобия в программе RAxML ver. 8.2.10 с использованием графического интерфейса raxmlGUI 2.0 beta. Полученное максимально правдоподобное дерево показано на рис. 1.

Поддержка ветвей рассчитывалась методом Bootstrap by transfer (Lemoine et al., 2018). Для удобства восприятия оно изображено в виде кладограммы, т. е. без учета длин ветвей.

Хотя, как и хлоропластное дерево, оно оказалось неполностью разрешенным и с частью концевых веток нулевой длины, общая топология его принципиально иная. Последовательности большинства исследованных видов секции образовали здесь самостоятельные клады. Основание дерева образовано градой, содержащей последовательности одного из двух образцов *P. nivea* и по одному аллелю двух образцов *P. anachoretica* с острова Врангеля. Далее следует клада I, включающая все остальные последовательности образцов *P. anachoretica* с острова Врангеля, сестринская всем остальным представителям секции. Сояк (Soják, 2005) рассматривал *P. anachoretica* как продукт гибридизации *P. multifida* agg. x sect.

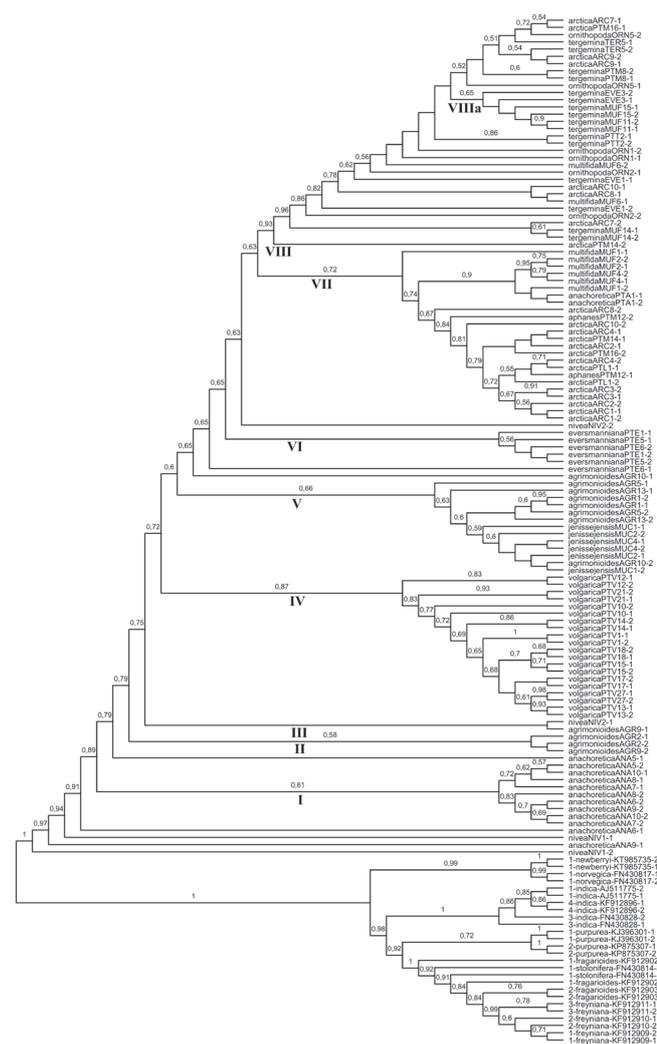


Рис. 1. Дерево отношений видов *Potentilla multifida* agg. (метод максимального правдоподобия) по данным ядерного внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальной ДНК (ITS). Названия терминальных групп содержат название вида, номер образца и цифру 1 или 2, обозначающую номер реконструированного аллеля. Крупные клады, обсуждаемые в тексте, обозначены римскими цифрами. Значения бутстреп поддержки выше 50 % обозначены над ветвями.

сестринские клады VII, и VIII. Клада VII представлена большинством образцов *P. multifida* и *P. arctica*, образовавшими две сестринские субклады, кроме одного аллеля *P. multifida*, оказавшегося сестринским по отношению к ним всем. Сами субклады примечательны по своему составу. Одна из них включает аллели трех образцов *P. multifida* из Тывы и Саян, а также оба аллеля образца *P. anachoretica* с Таймыра. Это можно интерпретировать, как подтверждение упомянутой выше гипотезы Союка о происхождении *P. anachoretica*, но также как указание на то, что сама *P. anachoretica* неоднородна и, вероятно, полифилетична. Вторая субклада объединяет большинство образцов *P. arctica* с побережья Кандалакшского залива Белого моря, а также оба аллеля *P. aphanes* из южного Таджикистана. Вероятно, такой состав субклады свидетельствует об участии *P. multifida* в происхождении всех трех видов.

Клада VIII включает в себя аллели образцов *P. arctica*, *P. multifida*, *P. ornithopoda* и *P. tergemina*. Аллели отдельных видов не образуют здесь самостоятельных субклад за исключением небольшой суб-

Niveae (Rydb.) Juz. Наши данные скорее указывают на вероятность спорадической гибридации между *P. anachoretica* и *P. nivea*. Клада II объединяет два образца *P. agrimonioides* с Северного Кавказа, один из которых (AGR2) представлен обоими аллелями, а второй (AGR9) – только одним. Второй аллель вместе с одним из аллелей второго образца *P. nivea* образуют кладу III. Остальные образцы *P. agrimonioides*, как с Кавказа, так и с Алтая, образуют кладу V вместе с образцами *P. jensisejensis*. Ни Камелин, ни Сояк нигде не упоминают о возможной гибридной природе *P. agrimonioides*. Наши данные не исключают такой возможности, так как последовательности этого вида попадают в разные клады, но они недостаточны, чтобы указать на возможных родителей. Наши данные подтверждают крайнюю близость *P. agrimonioides* и *P. jensisejensis*.

Клада IV располагается между кладами III и V и представляет все исследованные последовательности *P. vulgarica*. Умеренные и низкие уровни поддержки перечисленных клад и неполнота выборки включенных в анализ таксонов не позволяет говорить об их близости. Вместе с тем наши данные однозначно указывают на то, что *P. vulgarica*, вопреки мнению Камелина, не является «гибридогенной расой», а представляет собой вполне хороший обособленный вид. Все, кроме одной последовательности *P. evermanniana*, образуют, хотя и с низкой поддержкой, кладу VI. Наши данные говорят в пользу их обособленности от *P. vulgarica*, вопреки мнению А. К. Скворцова и ряда других авторов (Решетникова, 2018) и при этом никак не подтверждают мнение Камелина о происхождении *P. evermanniana* в результате гибридации *P. multifida* x *P. conferta*. Два аллеля *P. agrimonioides* и *P. evermanniana* образовали граду в основании клады VI, однако вряд ли это можно интерпретировать в пользу их гибридного происхождения. Один из аллелей второго образца *P. nivea* оказался сестринским по отношению к оставшимся образцам, образовавшим

клады VIIIa, объединяющей все аллели трех образцов *P. tergemina*. Состав клады VIII и последовательность образцов разных видов свидетельствуют об участии *P. multifida* и *P. tergemina* в происхождении *P. ornithopoda* и *P. arctica*. Однако имеющиеся у нас данные не позволяют пока сделать более детальных выводов.

Таким образом, наше исследование позволило установить, что рассматриваемые виды секции *Multifidae* представляют собой молодые образования, обычно не полностью дифференцированные друг от друга по хлоропластным маркерам. По ядерным маркерам (ITS) дифференциация прослеживается гораздо лучше. Проблема, однако, заключается в том, что эти маркеры не всегда и часто плохо амплифицируются при использовании стандартных праймеров. Необходима разработка специфичных праймеров для рода *Potentilla*, а также клонирование ядерных ПЦР продуктов или использование методов высокопроизводительного секвенирования для получения последовательностей всех аллелей. Тем не менее, даже наше исследование, выполненное на недостаточной выборке таксонов и с использованием методов виртуального разделения аллелей, позволило в ряде случаев прояснить спорные вопросы систематики некоторых видов, по поводу которых Камелин и Соляк придерживались противоположных точек зрения, опираясь исключительно на морфологические данные.

Благодарности. Авторы благодарны кураторам гербариев МНА и MW за возможность изучения и деструктивного отбора образцов для исследования ДНК. Работа выполнена в рамках государственного задания ГБС РАН № 19–119012390082–6 и при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19–04–01308). Благодарим Министерство Науки и Высшего образования за поддержку ЦКП «Гербарий ГБС РАН», грант 075-15-2021-678.

ЛИТЕРАТУРА

- Камелин П. В.** Род 15. Лапчатка – *Potentilla* L. // Флора Восточной Европы. – СПб.: Мир и Семья; Изд-во СПХ-ФА, 2001. – Т. 10. – С. 394–452.
- Камелин П. В.** Лекции по систематике растений. Главы теоретической систематики растений. – Барнаул: Изд-во «АзБука», 2004. – 226 с.
- Решетникова Н. М.** Род 7 (3356). *Potentilla* L. – Лапчатка // Флора Нижнего Поволжья. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2018. – Т. 2, ч. 2. – 519 с.
- Lemoine F., Domelevo Entfellner J. B., Wilkinson E., Correia D., Dávila Felipe M., De Oliveira T., Gascuel O.** Renewing Felsenstein's phylogenetic bootstrap in the era of big data // *Nature*, 2018. – Vol. 556. – P. 452–456. DOI: 10.1038/s41586-018-0043-0
- Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J. C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S. E., Sánchez-Gracia A.** DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets // *Mol. Biol. Evol.*, 2017. – Vol. 34. – P. 3299–3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248
- Rydberg P. A.** Notes on *Potentilla*. II // *Bull. Torrey Bot. Club*, 1896. – Vol. 23. – P. 259–265.
- Schanzer I. A., Fedorova A. V., Shelepova O. V., Suleymanova G. F.** Molecular Phylogeny and Phylogeography of *Potentilla multifida* L. agg. (Rosaceae) in Northern Eurasia with Special Focus on Two Rare and Critically Endangered Endemic Species, *P. volgarica* and *P. eversmanniana* // *Plants*, 2020. – Vol. 9, № 12. – P. 1798. DOI: 10.3390/plants9121798
- Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W., Miller J., Siripun K. C., Winder C. T., Schilling E. E., Small R. L.** The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis // *Am. J. Bot.*, 2005. – Vol. 92. – P. 142–166. DOI: 10.3732/ajb.92.1.142
- Shaw J., Lickey E. B., Schilling E. E., Small R. L.** Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose non-coding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III // *Am. J. Bot.*, 2007. – Vol. 94. – P. 275–288. DOI: 10.3732/ajb.94.3.275
- Soják J.** *Potentilla* L. (Rosaceae) and related genera in the former USSR (identification key, checklist and figures) Notes on *Potentilla* XVI // *Bot. Jahrb. Syst.*, 2004. – Vol. 125, № 3. – P. 253–340.
- Soják J.** *Potentilla* L. s. l. (Rosaceae) in Flora Europae Orientalis (Notes on *Potentilla* XVIII) // *Candollea*, 2005. – Vol. 60, № 1. – P. 59–78.
- Stephens M., Smith N., Donnelly P.** A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. // *Am. J. Hum. Genet.*, 2001. – Vol. 68. – P. 978–989. DOI: 10.1086/319501
- Stephens M., Donnelly P.** A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data // *Am. J. Hum. Genet.*, 2003. – Vol. 73. – P. 1162–1169. DOI: 10.1086/379378
- Wen J., Zimmer E.** Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the ginseng genus, Araliaceae): Inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1996. – Vol. 6. – P. 167–177. DOI: 10.1006/mpev.1996.0069