

О значении отдаленной гибридизации при изучении биоразнообразия цветковых растений

The importance of hybridization in the study of the biodiversity of flowering plants

Пунина Е. О.¹, Шнеер В. С.¹, Носов Н. Н.¹, Гнутиков А. А.^{1,2}, Родионов А. В.^{1,3}

Punina E. O.¹, Shneer V. S.¹, Nosov N. N.¹, Gnutikov A. A.^{1,2}, Rodionov A. V.^{1,3}

¹ Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия.
E-mail: elizaveta_punina@mail.ru; shneyer@rambler.ru; nnosov2004@mail.ru

¹ Komarov Botanical Institute, St. Petersburg, Russia

² ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, г. Санкт-Петербург, Россия.
E-mail: alexandr2911@yandex.ru

² Federal Research Center N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

³ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: avrodionov@mail.ru

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Реферат. В статье обсуждается необходимость учета межвидовых и межродовых гибридов цветковых растений во флористических сводках и определителях, методы их выявления и распространенность в российской и некоторых региональных флорах.

Ключевые слова. Видообразование, встречаемость гибридов, доказательства гибридизации, межвидовые гибриды у растений, нотовиды.

Summary. The article discusses the need to take into account interspecific and intergeneric hybrids of flowering plants in floristic summaries and keys, methods of their identification and prevalence in Russian and some regional floras.

Key words. Evidence of hybridization, interspecific hybrids in plants, nothospecies, occurrence of hybrids, speciation.

В настоящее время общепризнано, что отдаленная, межвидовая и даже межродовая гибридизация – это один из магистральных путей таксонообразования у цветковых растений. Однако к пониманию значения, механизмов и последствий отдаленной гибридизации мы начинаем подходить только сейчас. В XX в. среди крупнейших отечественных систематиков и флористов не было единого мнения о значении гибридизации как эволюционного фактора. Так, например, М. Г. Попов считал, что межвидовая гибридизация – постоянно идущий процесс в природных популяциях растений и ключевой этап для формирования новых таксонов растений, в то время как В. Л. Комаров, напротив, рассматривал межвидовые гибриды как редкие, уникальные случаи, а их изучение – «мучением для систематика», «сгих botanicorum» (см. обзор: Родионов и др., 2020). Такое мнение у В. Л. Комарова сформировалось, в частности, на основе его личного опыта изучения флоры Уссурийского края, где он обнаружил только 2 гибрида на 1500 видов (Комаров, 1940). Если мы обратимся к региональным флорам и определителям, составленным в 1950–1970-х гг., то увидим, что межвидовые гибриды там, действительно, отмечаются крайне редко. Например, в «Определителе высших растений Крыма» (1972), охватывающем около 2400 видов растений, приводится только один нотовид *Setaria × ambigua* Guss. (*S. verticillata* × *S. viridis*) и указано, что виды рода *Orchis* «легко гибридизируют между собой <...> для Крыма известно около 10 гибридов».

А. Л. Тахтаджян считал, что «каждый случай обнаружения межвидовых гибридов заслуживает самого пристального внимания» (Тахтаджян, 1970). Р. В. Камелин уделял большое внимание изучению межвидовой гибридизации, анализируя ее встречаемость в разных систематических группах и у разных жизненных форм растений (Камелин, 2009).

Современной сводки «Флоры России» до сих пор не создано, однако уже в XXI в. опубликовано некоторое количество региональных сводок, созданных в результате относительно новых таксономических обработок ряда групп. Как же учитываются гибриды в этих флорах? На каком основании можно отнести тот или иной образец или группу образцов к межвидовому гибриду или нотовиду? Как доказать факт межвидовой гибридизации и установить родительские виды? Какова фертильность гибрида? К какому типу межвидовой гибридизации относится данный гибрид, если это действительно гибрид? Почему в разных семействах, даже самых богатых родами и видами, мы наблюдаем разную встречаемость межвидовой гибридизации? Почему у двух видов с широкими ареалами при совместном произрастании их гибриды в одних регионах отмечены, а в других – нет? Мы полагаем, что это те актуальные вопросы, на которые в ближайшем времени ботаники должны найти ответы.

Чаще всего потенциально гибридные экземпляры могут быть выявлены на основании анализа морфологических признаков, которые могут быть выражены или как промежуточные между родительскими видами, и/или представлять собой комбинацию родительских признаков. Чаще всего такие морфологически промежуточные особи выявляются при совместном произрастании родительских видов, но в каких-то случаях один или оба родительских вида могут исчезнуть на данной территории, и тогда выявление гибрида может быть затруднено.

В той или иной степени фертильность межвидовых гибридов может быть снижена, они могут не образовывать жизнеспособных семян, но в ряде случаев способны к активному вегетативному размножению, занимая определенное место в биоценозе. Снижение фертильности определяется в первую очередь геномными различиями, приводящими к частичным или абсолютным мейотическим нарушениям, и, следовательно, невозможности формирования достаточного количества полноценных гамет. В отдельных случаях мы наблюдали недоразвитие генеративных органов как мужской, так и женской сферы, например, у собранного нами на побережье Белого моря у считающегося нотовидом межродового гибрида \times *Leymotrigia bergrothii* (H. Lindb.) Tzvelev (= *Leymus arenarius* \times *Elytrigia repens*), образующего многочисленные и обширные по площади клоны на приморских песках, при нормально сформированных колосковых и цветковых чешуях полностью отсутствовали и завязи, и пыльники. Цитологическое исследование мейоза – процесс трудоемкий и жестко определяемый как временными рамками, так и доступностью большого количества материала, поэтому в подавляющем большинстве случаев такие исследования проводят на культивируемых растениях. Для дикорастущих же видов, когда исследователь располагает небольшим количеством гербарных экземпляров, самой простой экспресс-оценкой наличия мейотических нарушений служит окрашивание пыльцевых зерен различными красителями, например, ацетокармином. При этом необходимо учитывать, что мейотические нарушения могут возникать и по другим причинам, поэтому при проведении такого анализа необходимо определять долю стерильной пыльцы и у предполагаемых родительских видов.

Если у гибрида фертильность снижена, но не утрачена полностью, то такие гибриды могут скрещиваться в свою очередь с одним или обоими родительскими видами. В этом случае мы наблюдаем интрогрессивную гибридизацию, при которой исходные виды через возвратные гибриды многих поколений связаны непрерывным переходом морфологических признаков. Это приводит к образованию интрогрессивно-межвидовых комплексов и гибридных сингамеонов, как об этом писал Р. В. Камелин (2009).

Не исключено, что в разных частях ареалов, виды, способные скрещиваться между собой, образуют гибриды разной степени плодовитости. Так, по нашим наблюдениям, отмеченные нами на юге Ленинградской области редкие гибриды *Pulsatilla* \times *hackelii* Pohl (= *P. patens* (L.) Mill. \times *P. pratensis* (L.) Mill.) никогда не завязывали семян, а доля стерильной пыльцы у них составляла не менее 91 %. Вместе с тем в других частях ареала такие растения иногда завязывали семена, и этот случай гибридизации был отнесен к интрогрессивной (Szczecińska et al., 2017).

Межвидовая гибридизация – первый этап магистрального для растений эволюционного пути, за которым чаще всего следует процесс удвоения хромосомного набора, приводящий к возникновению аллополиплоида со сбалансированным мейозом и восстановленной фертильностью; такой аллополиплоид в дальнейшем эволюционирует как самостоятельный вид, его комплексный геном претерпевает существенные изменения, включая объединение и/или потерю части хромосом. Такие циклы могут проходить неоднократно (Родионов и др., 2013; Soltis et al., 2016 и др.). Происхождение гибридов первого поколения и аллополиплоидов иногда удается установить цитогенетическими методами (GISH-гибридизация), однако для этого требуется дорогостоящее оборудование и высокая квалификация исследователя.

С развитием методов секвенирования ДНК появляются и новые способы проверки гибридного происхождения образца. В молекулярно-филогенетических исследованиях растений одним из лучших маркеров, выявляющим различия на межвидовом уровне, являются широко используемые ядерные последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 рибосомальных генов 35S рРНК. Эти последовательности многокопийны и наследуются как по материнской, так и по отцовской линии. Ранее считалось, что в гибридном геноме всегда и очень быстро происходит их изогенизация, и при секвенировании по Сэнгеру могут быть выявлены ITS-последовательности только одного из родительских видов, за редким исключением, таким как пионы, когда у ITS-последовательностей гибрида в тех сайтах, по которым родительские виды различаются однонуклеотидными заменами, выявляется присутствие обоих нуклеотидов, так называемые полиморфные сайты (Punina et al., 2012, 2017). В настоящее время таких примеров известно намного больше. Если такие полиморфные сайты у изучаемого образца могут быть выявлены, то факт гибридизации можно считать доказанным. Если же секвенирование по Сэнгеру не показало их наличие, то следующим этапом проверки будет использование все более доступных методов секвенирования нового поколения, которые позволяют анализировать сотни и тысячи копий ITS-последовательностей и выявлять присутствие их единичных копий от одного из родителей в гибридном/аллополиплоидном образце (см., например, Rodionov et al., 2020). Применение молекулярных методов позволяет обнаружить гибриды, не обладающие морфологической промежуточностью (Beatty et al., 2009; McIntosh et al. 2014). В ряде случаев это происходило, когда исследовалось взаимодействие инвазионных видов с аборигенными, и в анализ бралось множество образцов (Gaskin, Schaal, 2002; Boswell et al., 2016). Такие работы пока немногочисленны, но они показывают, что число гибридов может быть сильно недооценено.

На основании только данных систематиков и флористов несколько раз делались попытки подсчета количества и частоты встречаемости гибридов и гибридогенных видов у цветковых в целом и в разных семействах и родах. Приблизительная оценка (без учета синонимии) на 1972 год дала цифры в 2 993 межродовых, а с учетом межвидовых – 23675 зарегистрированных гибридов (Knobloch, 1972). Среди 37 тыс. видов флоры Европы, Северной Америки и части Австралии, относящихся к 3212 родам из 282 семейств сосудистых растений, виды гибридного происхождения были отмечены в 40 % семейств и 16 % родов со средней частотой 9 гибридогенных видов на 100 видов негибридного происхождения (Whitney et al., 2010). Большинство предполагаемых гибридов – межвидовые в пределах одного рода; но межродовые гибриды тоже не редкость – их 3,5 %. Интересно, что по данным этого исследования в целом частота межвидовой гибридизации не связана с объемом семейства, хотя чаще всего гибриды были отмечены в таких крупных семействах, как Poaceae, Asteraceae и Orchidaceae.

Мы попытались произвести аналогичные подсчеты, основываясь на сводках по трем региональным флорам: Северо-Запада (Цвелев, 2000), Кавказа (Конспект флоры Кавказа, 2006–2012) и Нижнего Поволжья (Флора Нижнего Поволжья, 2006, 2018). К сожалению, последние две сводки еще не закончены, и мы не располагали сведениями о ряде семейств.

Флора цветковых растений Северо-Запада (Ленинградская, Псковская и Новгородская обл.) включает в себя 110 семейств, 609 родов, 1914 видов и 223 нотовида и гибрида без таксономического статуса. Эти нотовиды и гибриды, таким образом, составляют 10,4 % видового состава (при этом мы не учитывали виды и гибриды, существующие только в культуре, и также указанные в данной сводке). Нотовиды и гибриды отмечены в 34 семействах (30,9 %) и относятся к 76 родам (12,5 %). Таким образом, доля гибридных таксонов в относительно небогатой в видовом отношении флоре региона весьма значительна и в целом соотносится с таковой в более глобальном масштабе.

Наибольшее количество гибридов на Северо-Западе России встречается в таких семействах, как Potamogetonaceae (25 видов и 15 нотовидов/гибридов), Polygonaceae (59 и 12), Orchidaceae (33 и 9), Betulaceae (включая Corylaceae) (10 и 5), Violaceae (18 и 13), Salicaceae (26 и 19), Cyperaceae (111 и 21), Rosaceae (92 и 16), Lamiaceae (62 и 12), Asteraceae (198 и 33); реже – в таких крупных семействах, как Poaceae (190 и 10), Ranunculaceae (123 и 8), Brassicaceae (114 и 5), Fabaceae (90 и 6), Caryophyllaceae (91 и 2). В крупном сем. Ariaceae (51 вид) гибридов не отмечено, но в нём вообще обнаружено очень мало гибридов.

Сопоставляя эти данные с количеством нотовидов/гибридов в «Конспекте флоры Кавказа» для крупных семейств, вошедших в обработку, мы видим, что гибриды для Кавказа указываются относительно реже, несмотря на намного большее в целом видовое разнообразие: Potamogetonaceae – 21 и 0, Polygonaceae – 87 и 6, Orchidaceae – 57 и 7, Betulaceae (включая Corylaceae) – 16 и 5, Violaceae – 32 и 10, Salicaceae – 26 и 2, Cyperaceae – 166 и 1, Asteraceae – 839 и 47, Poaceae – 596 и 17, Ranunculaceae – 285

и 3, Brassicaceae – 373 и 0, Caryophyllaceae – 309 и 8. Среди крупных семейств, которые представлены на Кавказе, но отсутствуют или очень малочисленны на Северо-Западе, гибриды изредка отмечены у Iridaceae (53 и 1) и Liliaceae (63 и 1). В сем. Ariaceae (274 вида на Кавказе) гибридов также не отмечено.

Во «Флоре Нижнего Поволжья» (2006, 2018) нотовиды и гибриды представлены следующим образом: сем. Potamogetonaceae – 22 вида и 6 нотовидов/гибридов, Polygonaceae – 47 и 17, Orchidaceae – 23 и 0, Betulaceae (включая Corylaceae) – 5 и 0, Violaceae – 20 и 13, Salicaceae – 14 и 7, Cyperaceae – 91 и 1, Rosaceae – 116 и 19, Poaceae – 221 и 3, Ranunculaceae – 62 и 3, Brassicaceae – 152 и 5, Fabaceae – 149 и 6, Caryophyllaceae – 92 и 4. В Нижнем Поволжье указаны только 1 предполагаемый гибрид и 1 нотовид (род *Blitum*) для многочисленного сем. Chenopodiaceae (102 вида), в то время как на Северо-Западе (49 видов) и на Кавказе (166 видов) в этом семействе гибридов не отмечено.

Такие различия в данных о частоте встречаемости гибридов в разных регионах могут быть обусловлены как субъективными, так и объективными причинами. В каких-то случаях это может быть связано с разными взглядами на роль межвидовой гибридизации у разных исследователей, проводивших обработку конкретного таксона. В других случаях можно предполагать наличие каких-то неизвестных пока факторов, препятствующих гибридизации способных к ней видов даже при совместном произрастании. В третьих случаях, таксон на территории региона может быть еще недостаточно изучен, и возможно описание новых нотовидов. Так, например, на территории Алтая нами были впервые найдены и описаны три нотовида из рода *Poa* (Nosov et al., 2015; Носов и др., 2017), отмечены не имеющие пока таксономического статуса гибриды *Elymus*, *Hordeum*, *Stipa*. Даже в тех крупных семействах, где отдаленная гибридизация встречается очень редко, в последние годы обнаруживаются новые гибридогенные таксоны. Так, в сем. Papaveraceae, представленном на Кавказе 5 родами и 43 видами, в «Конспекте флоры Кавказа» нотовиды или гибриды указаны не были, однако недавно был описан нотовид из Дагестана *Papaver* × *tuberculatum* V. I. Dorof. et Murtazaliev (Дорофеев, Муртазалиев, 2014). В крупнейшем сем. Ariaceae в мировом масштабе были достоверно известны лишь единичные случаи межвидовой гибридизации, а недавно в Великобритании был обнаружен уникальный для этого семейства межродовой гибрид *Berula erecta* × *Helosciadium nodiflorum* и доказано его происхождение (Desjardins et al., 2015).

Мы не могли обойти вниманием новейшую обработку сем. Poaceae флоры России, авторы которой всегда внимательнейшим образом относились к фиксации фактов межвидовой гибридизации – «Злаки России» (Цвелев, Пробатова, 2019). Как было показано выше, несмотря на то, что в мировом масштабе в сем. Poaceae межвидовая и даже межродовая гибридизация встречается наиболее часто, в отдельных регионах это не так. В трех упомянутых выше региональных флорах нотовиды и гибриды среди злаков составляют 5 % на Северо-Западе, 2,8 % на Кавказе и 1,3 % в Нижнем Поволжье с очень незначительной долей нотородов. А для России в целом Н. Н. Цвелевым и Н. С. Пробатовой указано 174 рода и 13 нотородов (7 %), 1423 вида, 91 нотовид и 23 межвидовых гибрида без таксономического статуса, которые суммарно составляют 7,4 % от общего числа видов. И вероятно, число межвидовых гибридов у злаков в масштабах России намного больше, поскольку Н. Н. Цвелев и Н. С. Пробатова (2019) предполагают, что еще 130 видов в разных родах Poaceae также могут иметь гибридное происхождение. Предстоит проверить многие из этих гипотез и выяснить истинные масштабы межвидовой гибридизации у злаков как в отдельных регионах, так и во флоре России в целом.

Благодарности. Работа финансировалась из средств госзадания АААА- А18-118040290161-3.

ЛИТЕРАТУРА

Дорофеев В.И., Муртазалиев Р.А. *Papaver* × *tuberculatum* (Papaveraceae) – новый нотовид из Дагестана // Turczaninowia, 2014. – Т. 17, № 4. – С. 5–11.

Камелин Р.В. Особенности видообразования у цветковых растений // Тр. Зоол. ин-та РАН. Приложение № 1, 2009. – С. 141–149.

Комаров В.Л. Учение о виде у растений. – М.; Л., 1940, цит. по изданию: Комаров В.Л. Избранные сочинения в 12 т. Т. 1. – М.; Л., 1945. – 670 с.

Конспект флоры Кавказа: В 3 т. / Отв. ред. А.Л. Тахтаджян: Т. 2 / Ред. Ю.Л. Меницкий, Т.Н. Попова. – СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского ун-та, 2006. – 467 с.

Конспект флоры Кавказа: В 3 т. / Отв. ред. А.Л. Тахтаджян: Т. 3, ч. 1 / Ред. Ю.Л. Меницкий, Т.Н. Попова, Г.Л. Кудряшова, И.В. Татанов. – СПб.; М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. – 467 с.

Конспект флоры Кавказа: В 3 т. / Отв. ред. А.Л. Тахтаджян: Т. 3, ч. 2 / Ред. Г.Л. Кудряшова, И.В. Татанов. – СПб.; М.: Тов-во науч. изданий изд. КМК, 2012. – 623 с.

Носов Н. Н., Пунина Е. О., Родионов А. В. Конспект Роасеае (злаки) Алтайского края и Республики Алтай. Сообщение I. Роды *Аrcтороа* (арктомятлик), *Еретороа* (пустынномятлик) и *Роа* (мятлик) // *Turczaninowia*, 2017. – Т. 20, № 2. – С. 31–55.

Определитель высших растений Крыма. / Под общей ред. проф. Рубцова Н. И. – Л.: Наука, 1972. – 550 с.

Родионов А. В., Шнеер В. С., Гнутиков А. А., Носов Н. Н., Пунина Е. О., Журбенко П. М., Лоскутов И. Г., Муравенко О. В. Диалектика видов: от исходного единообразия, через максимально возможное разнообразие к конечному единообразию // *Бот. журн.*, 2020. – Т. 105, № 9. – С. 835–853.

Родионов А. В., Коцербуба В. В., Ким Е. С., Пунина Е. О., Носов Н. Н. Эволюция геномов и хромосомных наборов злаков // *Цитология*, 2013. – Т. 55, № 4. – С. 225–229.

Тахтаджян А. Л. Биосистематика: прошлое, настоящее, будущее // *Бот. журн.*, 1970. – Т. 55, № 3. С. 331–345.

Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области. – СПб.: Изд-во СПФХА, 2000. – 781 с.

Цвелев Н. Н., Пробатова Н. С. Злаки России. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2019. – 646 с.

Флора Нижнего Поволжья. Т. 1 / отв. ред. А. К. Скворцов. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2006. – 435 с.

Флора Нижнего Поволжья. Т. 2 / отв. ред. Н. М. Решетникова. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2018. – 1081 с.

Beatty G. E., Philipp M., Provan J. Unidirectional hybridization at a species' range boundary: implications for habitat tracking // *Diversity and Distributions*, 2010. – Vol. 16. – № 1. – P. 1–9.

Boswell A., Sing S. E., Ward S. M. 2016 Plastid DNA Analysis reveals cryptic hybridization in invasive dalmatian Toadflax (*Linaria dalmatica*) populations // *Invasive Plant Science and Management* 2016. – Vol. 9. – P.112–120.

Desjardins, S. D., Leslie, A. C., Stace, C. A., Schwarzacher, T., Bailey, J. P. Intergeneric hybridisation between *Berula erecta* and *Helosciadium nodiflorum* (Apiaceae) // *Taxon*, 2015. – Vol. 64(4). – P. 784–794.

Gaskin J. F., Schaal B. A. Hybrid *Tamarix* widespread in U.S. invasion and undetected in native Asian range // *PNAS*, 2002. – Vol. 99 (17). – P. 11256–11259.

Knobloch I. W. Intergeneric hybridization in flowering plants // *Taxon*, 1972. – Vol. 21(1). – P. 97–103.

McIntosh E. J., Rossetto M., Weston P. H., Wardle G. M. Maintenance of strong morphological differentiation despite ongoing natural hybridization between sympatric species of *Lomatia* (Proteaceae) // *Annals of Botany* 2014. – Vol. 113. – P. 861–872

Nosov N. N., Punina E. O., Rodionov A. V. Two new species of *Poa* (Poaceae) from the Altai Mountains, southern Siberia // *Ann. Bot. Fennici.*, 2015. – Vol. 52. – P. 19–26.

Punina E. O., Machs E. M., Krapivskaya, E. E., Kim E. S., Mordak E. V., Myakoshina Y. A., Rodionov A. V. Interspecific hybridization in the genus *Paeonia* (Paeoniaceae): polymorphic sites in transcribed spacers of the 45S rRNA genes as indicators of natural and artificial peony hybrids // *Russian Journal of Genetics*, 2012. – Vol. 48(7). – P. 684–697.

Punina E. O., Machs E. M., Krapivskaya E. E., Rodionov A. V. Polymorphic sites in transcribed spacers of 35S rRNA genes as an indicator of origin of the *Paeonia* cultivars // *Russian Journal of Genetics*, 2017. – Vol. 53(2). – P. 202–212.

Rodionov A. V., Amosova A. V., Krainova L. M., Machs E. M., Mikhaylova Y. V., Gnutikov A. A., Muravenko O. V., Loskutov I. G. Phenomenon of multiple mutations in the 35S rRNA genes of the C subgenome of polyploid *Avena* L. species // *Russ. J. of Genetics*, 2020. – Vol. 56. – P. 674–683.

Soltis D. E., Visger C. J., Marchant D. B., Soltis P. S. Polyploidy: Pitfalls and paths to a paradigm – *Am. J. Bot.*, 2016. – Vol. 103. – P. 1146–1166. DOI: 10.3732/ajb.1500501

Szczecińska M., Łazarski G., Biliska K., Sawicki J. The complete plastid genome and nuclear genome markers provide molecular evidence for the hybrid origin of *Pulsatilla × hackelii* Pohl. // *Turkish Journal of Botany*, 2017. – Vol. 41(4). DOI: 10.3906/bot-1610-28

Whitney K. D., Ahern J. R., Campbell L. G., Albert L. P., King M. S. Patterns of hybridization in plants // *Persp. Plant Ecol. Evol. Syst.*, 2010. – Vol. 12. – P. 175–182.