

Таксономическая ревизия видов рода *Kailashia* на основе анализа морфологических данных и молекулярной филогении

Taxonomic revision of species of the genus *Kailashia* based on analysis of morphological data and molecular phylogeny

Терентьева Е. И., Лаврова Т. В., Украинская У. А., Ключиков Е. В.

Terentieva E. I., Lavrova T. V., Ukrainskaja U. A., Kljuykov E. V.

Научно-образовательный центр – Ботанический сад Петра I биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mail: el.terentieva@mail.ru; lavrovamgu@mail.ru; ulja_ukr@mail.ru; kljuykov@gmail.com
Research and Educational Center Botanical Garden of Peter I of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Реферат. В статье проведено уточнение видового состава рода *Kailashia* с использованием молекулярно-филогенетических методов и сопоставление полученных результатов с морфологическими данными, представленными в работе (Клжуйков et al., 2022). Для молекулярно-филогенетического анализа были взяты гербарные образцы, хранящиеся в гербариях MW, HARV, KUN и NAS. В качестве маркера для молекулярных исследований были выбраны внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1 и ITS2) участка 18S–26S ядерной рибосомной ДНК. Описание нового вида *Kailashia bouffordii* по результатам ранее проведенных морфологических исследований (Клжуйков et al., 2022) согласуется с результатами реконструкции молекулярной филогении. *Kailashia* – это небольшой естественный род, состоящий из трех эндемичных видов (*K. robusta*, *K. xizangensis*, *K. bouffordii*), которые образуют в кладе «*Selineae*» монофилетическую группу с высокой апостериорной вероятностью.

Ключевые слова. Зонтичные, молекулярные исследования, морфологические признаки, филогения, ITS.

Summary. The article clarifies the species composition of the genus *Kailashia* using molecular phylogenetic methods and compares the results with the morphological data presented in the paper of Kljuykov et al. (2022). For molecular phylogenetic analysis, herbarium samples were taken from the MW, HARV, KUN and NAS herbariums. Internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) of the 18S–26S region of nuclear ribosomal DNA were chosen as a molecular marker. The description of the new species *Kailasia bouffordii* based on the results of previous morphological studies (Kljuykov et al., 2022) is consistent with the results of the reconstruction of molecular phylogeny. *Kailashia* is a small natural genus with three endemic species (*K. robusta*, *K. xizangensis*, *K. bouffordii*) that form a high posterior monophyletic group in the *Selineae* clade.

Key words. ITS, molecular-phylogenetic study, morphological characters, phylogeny, Umbelliferae.

Введение. Род *Kailashia* Pimenov et Kljuykov входит в состав группы *Ligusticeae*, которую выделил Г. Н. Леуте (1969, 1970) при изучении родственных таксонов (*Ligusticum* L., *Selinum* L., *Cnidium* Cusson ex Jussieu, *Cortia* DC. и некоторых др.) со сложной запутанной систематикой. В разное время некоторые виды этой группы были отнесены к родам *Pachypleurum* Ledeb., *Peucedanum* L., *Oreocome* Edgew и *Conioselinum* Hoffm.

Род *Kailashia* Pimenov et Kljuykov с типовым видом *K. xizangensis* (Chang Hotseng et Shan Renhwa) Pimenov et Kljuykov был выделен из рода *Pachypleurum* (*P. xizangensis* Chang Hotseng et Shan Renhwa) (Pimenov, Kljuykov, 2005). Вторым видом *K. robusta* Pimenov et Kljuykov был описан по материалу, собранному в Индии на территории штата Уттаранчал (Pimenov, Kljuykov, 2005). *K. xizangensis* – эндемичный вид, встречающийся только на территории юго-западного Тибета, а вид *K. robusta* является узким эндемиком северо-западной Индии. Несмотря на изолированность ареалов, эти виды имеют ряд общих морфологических признаков: цельный каудекс, прямые, плотные одиночные стебли, трижды перисто-рассеченные листья с ромбическими по очертанию терминальными сегментами, листочки обертки узко-линейные, зубцы чашечки длинные, ланцетные, лепестки белые, стилодии отогнутые на спинную сторону мерикарпиев, плоды шероховатые, мерикарпии слегка сжатые со спинки, ребра почти равные, узко-крыловидные, ложбиночные секреторные каналы в числе 1–2, эндосперм с комиссуральной стороны плоский.

Во время критической ревизии рода *Ligusticopsis* Leute и близкородственных таксонов (*Ligusticum*, *Pachypleurum*, *Oreocome*, *Conioselinum*, *Selinum*) были найдены неясные гербарные образцы (*Ligusticopsis xizangensis* (Z. H. Pan et M. L. Sheh) Pimenov et Kljuykov, HARV 31320, *Pachypleurum xizangense* H. T. Chang et R. H. Shan, NAS 800415 и *Ligusticum brachylobum* Franch., KUN 11121), сходные по морфологическим признакам с родом *Kailashia*.

Для определения видовой принадлежности проблемных гербарных образцов был проведен сравнительно-морфологический анализ (Kljuykov et al., 2022). Он показал, что эти гербарные образцы имеют отличия от известных видов *Kailashia* в опушении стебля, форме листовых пластинок и долей листа, числе листочков обертки, длине цветоножек, форме и длине стилодиев, форме карпофора и размере комиссуры (табл.). Исходя из полученных результатов, в этой же статье был описан новый вид *K. bouffordii* Kljuykov et Lavrova.

Цель нашей работы – уточнение видового состава рода *Kailashia* с использованием молекулярно-филогенетических методов и сопоставление полученных результатов с морфологическими данными, представленными в статье (Kljuykov et al., 2022). Для молекулярно-филогенетического анализа в качестве маркера были выбраны внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1 и ITS2) участка 18S–26S ядерной рибосомной ДНК.

Материалы и методы. Для молекулярно-филогенетического анализа были взяты гербарные образцы, хранящиеся в гербариях MW, HARV, KUN и NAS. Экстракцию ДНК, амплификацию и секвенирование внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1 и ITS2) проводили согласно Valiejo-Roman et al. (2002). Полученные амплификаты были просеквенированы с двух цепей. Хроматограммы анализируемого участка исследовали в программе Chromas Lite 2.3.

Результаты. Нами были определены ITS последовательности 6 образцов рода *Kailashia*. Для молекулярно-филогенетического анализа из базы данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) дополнительно в анализ были включены 48 нуклеотидных ITS последовательностей из 29 родов. Отбор таксонов для молекулярно-филогенетического анализа осуществлялся на основе предыдущих исследований (Downie et al., 2010; Zhou et al., 2020).

Исследуемые нуклеотидные ITS последовательности были выровнены с помощью MUSCLE (Edgar, 2004) и скорректированы вручную с помощью BioEdit v. 7.0.5.2 (Hall, 1999). Матрица из ITS последовательностей содержит 437 символов, из которых 139 – консервативные, 230 – парсимонно-информативные и 68 – парсимонно-неинформативные. Филогенетические деревья были построены с применением метода Байеса с помощью программы MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012), используя модель нуклеотидных замен SYM+G, выбранную в качестве наиболее подходящей для анализируемой матрицы. В качестве внешней группы был выбран *Vupleurum chinense* DC. на основании исследований (Zhou et al., 2008). Всего в молекулярный анализ было включено 54 таксона.

Обсуждение. На полученном молекулярно-филогенетическом дереве (рис.) таксоны, включенные в анализ, распределились по четырем кладам («*Selineae*», «*Sinodielsia*», «*Acronema*» и «*Pleurospermeae*»), что согласуется с результатами исследований, проведенных ранее (Downie et al., 2010; Zhou et al., 2020). Субклада «*Kailashia*» в кладе «*Sinodielsia*» объединяет шесть таксонов (*Kailashia robusta* (261), два образца *Kailashia xizangensis* (263, 266), *Ligusticopsis xizangensis* 31320 HARV (285), *Pachypleurum xizangense* 800415 NAS (288), *Ligusticum brachylobum* KUN 11121(286)) с высокой апостериорной вероятностью (1,00), что указывает на их филогенетическое родство. Внутри субклады все разрешенные узлы также имеют высокие значения поддержки, что подтверждает их естественность. Неясные образцы *Ligusticopsis xizangensis* 31320 HARV, *Pachypleurum xizangense* 800415 NAS и *Ligusticum brachylobum* KUN 11121 объединились в один кластер (I), который занимает сестринское положение к остальным членам субклады (*K. robusta* (261) и *K. xizangensis* (263, 266)). Согласно результатам молекулярного анализа, образцы из кластера (I) имеют идентичные ITS последовательности с видоспецифическими знаменами, которые определяют положение анализируемых образцов на филогенетическом дереве, что согласуется с морфологическими данными. Все образцы кластера (I) имеют ряд общих морфологических признаков, характерных для рода *Kailashia*: цельный каудекс, узколинейные листочки обертки, шероховатые плоды, слегка сжатые со спинки мерикарпии с узкокрыловидными, почти равными ребрами, единичные (1–2) ложбиночные секреторные каналы (Kljuykov et al., 2022).

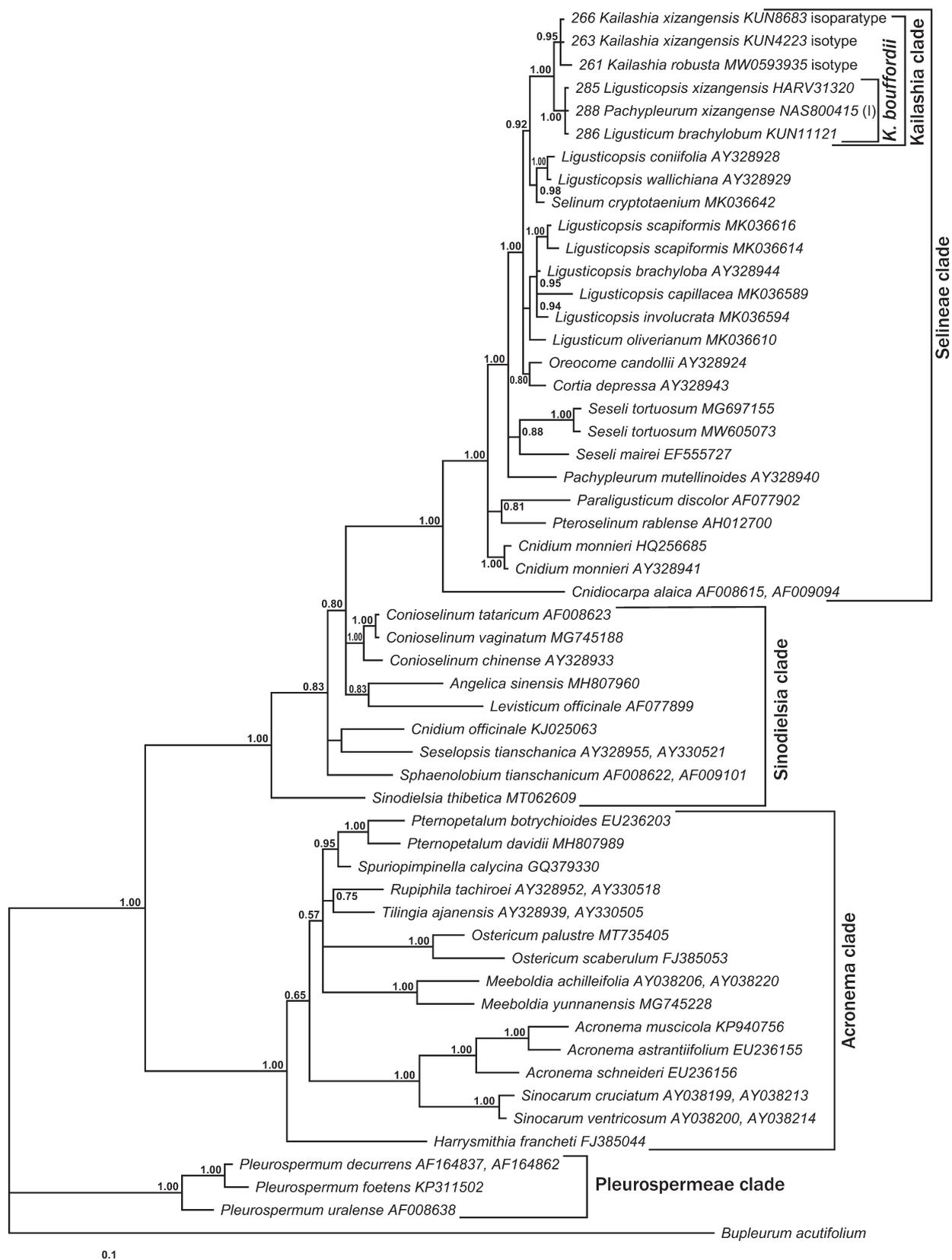


Рис. Консенсусное дерево, полученное по результатам анализа внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1 и ITS2) участка 18S–26S ядерной рДНК 54 видов с помощью метода Mr Bayes 3.2.6 на основании 20 000 000 генераций. Числа около узлов представляют значения апостериорной вероятности. Узлы с поддержкой менее 0,5 не показаны.

По результатам анализа ITS последовательностей у образцов *K. robusta* (261) и *K. xizangensis* (263, 266) были выявлены синапоморфные замены, которые определяют положение этих видов в субкладе «*Kailashia*» и отличают эти виды от образцов кластера (I), что соответствует результатам морфологических исследований (Kljuykov et al., 2022), согласно которым образцы кластера (I) были признаны новым отдельным видом *Kailashia bouffordii* Kljuykov et Lavrova. Таксономически важные признаки видов рода *Kailashia* представлены в (табл.).

Таблица

Сравнение диагностических признаков видов рода *Kailashia*

Признаки	<i>K. bouffordii</i>	<i>K. robusta</i>	<i>K. xizangensis</i>
Опушение стебля под зонтиком	Почти голые	Густо опушенные	Коротко шероховатые
Форма листовых пластинок	обратнойцевидно-ланцетный	Ромбический или обратнойцевидный	ланцетный
Длина черешочков первичных сегментов листьев	Сегменты сидячие или с короткими черешочками до 3 мм	1–4,5 см	0,5–2 см
Форма влагалищ	ланцетное	Обратнойцевидное или обратнойцевидно-ланцетное	ланцетное
Число листочков обертки	Отсутствует или 1–3	6–9	5–15
Длина цветоножек (мм)	9–10, тонкие	4–7, тонкие	4–5, утолщенные
Форма подстолбий	Низкое коническое	плоское	Низкое коническое
Форма и длина стилодиев (мм)	Лентовидные, 0,3–0,5	Тонкие, 1,5–2	Тонкие, 1,5
Форма карпофора	неразделяющийся	двураздельный	двураздельный
Размер мерикарпиев (мм)	5–7 × 2,5–4	5–9,5 × 3,5–7	6–7 × 2,8–3,5
Опушение плодов	Почти голые	Почти голые	Густоволосатые
Ребра мерикарпиев при основании	свободные	сросшиеся	свободные
Размер комиссуры	средняя	широкая	широкая

Таким образом, описание нового вида *Kailashia bouffordii* по результатам ранее проведенных морфологических исследований (Kljuykov et al., 2022) согласуется с результатами реконструкции молекулярной филогении. Три вида рода *Kailashia* (*K. robusta*, *K. xizangensis*, *K. bouffordii*) образуют монофилетическую группу с высокой апостериорной вероятностью.

ЛИТЕРАТУРА

- Downie S. R., Spalik K., Katz-Downie D. S., Reduron J. P.** Major clades within Apiaceae subfamily *Apioideae* as inferred by phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences // *Plant Diversity and Evolution*, 2010. – Vol. 128, № 1 2. – P. 111–136. DOI: 10.1127/1869-6155/2010/0128-0005
- Edgar R. C.** MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // *Nucleic Acids Research*, 2004. – Vol. 32, № 5. – P. 1792–1797. DOI: 10.1093/nar/gkh340
- Hall T. A.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symposium*. – Oxford, 1999. – Vol. 41. – P. 95–98. DOI: 10.4236/sgr.2015.64007
- Kljuykov E. V., Lavrova T. V., Terentieva E. I., Ukrainskaja U. A., Lyskov D. F.** Review of the genus *Kailashia* (Apiaceae) with description of a new species *K. bouffordii* from Xizang, China // *Phytotaxa*, 2022. – Vol. 564, № 2. – P. 257–264. DOI: 10.11646/phytotaxa.564.2.9
- Leute G. H.** Untersuchungen über den Verwandtschaftskreis der Gattung *Ligusticum* L. (Umbelliferae) // *Teil I Annalen des Naturhistorischen Museums*. – Wien, 1969. – Vol. 73. – P. 5–98.
- Leute G. H.** Untersuchungen über den Verwandtschaftskreis der Gattung *Ligusticum* L. (Umbelliferae) // *Teil II Annalen des Naturhistorischen Museums*. – Wien, 1970. – Vol. 74. – P. 457–519.
- Pimenov M. G., Kljuykov E. V.** New West Himalayan genus of the Umbelliferae, with notes on Tibetan species, described in *Pachypleurum* // *Feddes Repertorium*, 2005. – Vol. 116, № 1–2. – P. 80–91. DOI: 10.1002/fedr.200411060

Ronquist F. R., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D. L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A., Huelsenbeck J. P. Mr. Bayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space // *Systematic Biology*, 2012. – Vol. 61, № 3. – P. 539–542. DOI: 10.1093/sysbio/sys029

Valiejo-Roman C. M., Terentieva E. I., Samigullin T. H., Pimenov M. G. Relationships among genera in *Saniculoideae* (Umbelliferae) and connected taxa inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // *Taxon*, 2002. – Vol. 51, № 4. – P. 685–701. DOI: 10.2307/1554966

Zhou J., Gao Y., Wei J., Liu Z. W., Downie S. R. Molecular phylogenetics of *Ligusticum* (Apiaceae) based on nrDNA ITS Sequences: Rampant polyphyly, placement of the Chinese endemic species, and a much-reduced circumscription of the genus // *International journal of Plant Sciences*, 2020. – Vol. 18, № 3. – P. 306–323 DOI: 10.1086/706851

Zhou J., Peng H., Downie S. R., Liu Z. W. A molecular phylogeny of Chinese Apiaceae subfamily Apioideae inferred from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences // *Taxon*, 2008. – Vol. 57, № 2. – P. 402–410. DOI: 10.2307/25066012