

Вклад Алтайского региона в генетическое разнообразие *Paeonia anomala* L. (Paeoniaceae Raf.)

Contribution of the Altai region to the genetic diversity of *Paeonia anomala* L. (Paeoniaceae Raf.)

Дегтярева Г. В., Ефимов С. В., Терентьева Е. И.

Degtjareva G. V., Efimov S. V., Terentjeva E. I.

НОЦ-Ботанический сад Петра I, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mail: degavi@mail.ru, efimov-msu@yandex.ru, el.terentjeva@mail.ru
Research and Educational Center – Botanical Garden of Peter I, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Реферат. Изучена внутривидовая изменчивость нуклеотидных последовательностей фрагмента хлоропластного гена *ycf1* у наиболее широко распространенного вида *Paeonia anomala*. На протяжении всего ареала вид проявляет высокую фенотипическую изменчивость как по генеративным, так и по вегетативным признакам, что служило поводом для описания подвидов или форм. Использовано 36 образцов, охватывающих значительную часть ареала вида (Европейская часть России, Сибирь, Монголия, Казахстан), за исключением Китая. Выявлено три гаплотипа гена *ycf1*, два из которых могут рассматриваться как апоморфные. Все гаплотипы характеризуются определенной географической приуроченностью, при этом наибольшее генетическое разнообразие *Paeonia anomala* проявляется в Алтайском регионе. Важно отметить, что при освоении новых территорий при продвижении вида в северном и западном направлениях, принимали участие именно гаплотипы, рассматриваемые как апоморфные.

Ключевые слова. Морфология, филогеография, хлоропластная ДНК, *Paeonia*, *ycf1*.

Summary. Variability of plastid *ycf1* gene was studied to elucidate genetic diversity of *Paeonia anomala* (Paeoniaceae), which possesses the most extensive range among all species of the genus. Throughout its distribution range, the species shows a wide phenotypic variation, both in reproductive and vegetative traits, with the description of subspecies or varieties. Thirty-six populations were sampled across the entire distribution range of the species. Three haplotypes of the *ycf1* gene have been revealed, two of which can be considered as apomorphic. All haplotypes are distributed in distinct geographical locations, while the greatest genetic diversity of *Paeonia anomala* is manifested in the Altai region. It is important to note that when developing new territories and promoting the species in the northern and western directions, those haplotypes that are considered apomorphic were involved.

Key words. Chloroplast DNA, morphology, *Paeonia*, phylogeography, *ycf1*.

Введение. Род *Paeonia* L. включает около 35 видов, распространенных в Европе, Средиземноморье, Центральной и Восточной Азии, западных районах Северной Америки. Среди видов преобладают многолетние травы, но есть и листопадные геоксильные кустарники. Высокая морфологическая изменчивость и гибридизационные процессы, подтвержденные также и молекулярными методами (Sang et al., 1995; Sang et al., 1997; Sang et al., 2004; Pan et al., 2007; Punina et al., 2012), создают большие трудности при установлении границ между видами.

Группа травянистых видов рода *Paeonia anomala* L. включает 6 видов (*P. anomala*, *P. intermedia* С. А. Меу., *P. hybrida* Pall., *P. sinjagensis* К. У. Пан, *P. altaica* К. М. Дай и Т. Н. Инг и *P. veitchii* Lynch), распространенных в Сибири, Средней Азии и прилегающих регионах. Комплекс характеризуется дважды тройчатосложными сильно сегментированными листьями и диплоидным набором хромосом (Верещагина, 2003; Hong, Pan, 2004; Wang, 2014). Среди видов комплекса по широте распространения выделяется *Paeonia anomala*, обладающий самым протяженным ареалом по сравнению с другими видами рода. Ареал *Paeonia anomala* дизъюнктивно простирается от Северной Европы до Центральной Сибири, Монголии и Китая (Hong, 2010). На протяжении всего ареала *Paeonia anomala* проявляет широкую

фенотипическую изменчивость как по генеративным, так и по вегетативным признакам, что служило поводом для описания подвидов или форм (Hong, Pan, 2004).

Большую работу по изучению *P. anomala* и *P. hybrida* в Алтайском регионе провела Ирина Викторовна Верещагина (1924–2008). На обширном фактическом материале, полученном в экспедиционных поездках, был уточнен природный ареал видов для Алтайского края и Республики Алтай, а также проведено изучение биоморфологических особенностей и ритмов развития растений в популяциях. С привлечением математической статистики Ирина Викторовна обстоятельно проработала материал по внутривидовой изменчивости и показала высокую внутривидовую изменчивость по целому ряду признаков: высоте куста; размеру, форме сегментов и степени рассечения листовой пластинки; степени развития листовых придатков чашелистиков; окраске и размеру цветка, форме и числу лепестков; степени опушения и углу отклонения листовок. Наиболее четкие различия между видами выявлены в подземной части, а также экологии. Так, *P. anomala* в отличие от *P. hybrida* характеризуется наличием короткого, толстого, с хорошо заметными годичными кольцами, корневища с цилиндрическими, равномерно утолщенными по всей длине корнеклубнями. У *P. hybrida* корневище представлено шнуровидным корневищеподобным образованием, не имеющим годичных колец, с корнеклубнями, утолщенными неравномерно, иногда почти шаровидными. *P. intermedia* по ряду признаков занимает промежуточное положение между *P. anomala* и *P. hybrida*, характеризуясь наличием утолщенного, с хорошо заметными годичными кольцами, корневища с утолщенными корнеклубнями. Все виды различаются по местам обитания: *P. anomala* – мезофит, произрастающий по лесам, опушкам, полянам; *P. hybrida* – ксерофит, распространенный в степной области; *P. intermedia* обитает в горах, предгорьях, горнотепных лесах. Эти исследования были опубликованы в 2003 г. в монографии «Дикорастущие пионы Алтая» (Верещагина, 2003).

В последней таксономической ревизии (Hong, Pan, 2004) было признано только два вида *P. anomala* и *P. intermedia*, остальные предложено перенести в ранг подвидов (*P. anomala* subsp. *veitchii*) или синонимов.

Наши ранние исследования, основанные на изучении нуклеотидных последовательностей ITS ядерной рибосомной ДНК и фрагмента хлоропластного гена *ycf1* показали, что *P. anomala* представляет собой самостоятельный вид, хорошо обособленный как от *P. hybrida*, так и от *P. intermedia*. Оба молекулярных маркера показали значительно более выраженную дискретность по сравнению с морфологическими признаками в группе родства *Raemonia anomala* и достаточный уровень изменчивости, чтобы служить в качестве инструмента при идентификации видов в этом комплексе (Ефимов и др., 2016; Degtjareva, Efimov, 2021). Помимо этого, у *Raemonia anomala* обнаружено несколько гаплотипов гена *ycf1*. Для более точной оценки генетического разнообразия *Raemonia anomala* на протяжении ареала, мы исследовали данный молекулярный маркер на более крупной популяционной выборке.

Материалы и методы. Для выделения ДНК были использованы образцы растений из коллекций гербариев ALTB, LE, MW, МНА, а также собранные в ходе экспедиционных поездок по Кольскому полуострову, Республике Коми, Алтайскому краю и Республике Алтай. Для изучения внутривидовой изменчивости использовано 36 образцов, охватывающих значительную часть ареала вида (Мурманская область, Республика Коми, Пермский край, Свердловская область, Башкортостан, Челябинская область, Новосибирская область, Алтайский край, Республика Алтай, Красноярский край, Республика Тыва, Республика Бурятия, Монголия), за исключением Китая.

Препараты ДНК получали с помощью набора для экстракции растительной ДНК – NucleoSpin Plant II. Для амплификации фрагмента хлоропластного гена *ycf1* были использованы праймеры *ycf1bF* и *ycf1bR* (Dong et al., 2015). Определение нуклеотидных последовательностей ДНК проводили методом циклического секвенирования с использованием набора реагентов ABI Prism BigDye Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI Prism 3100-Avant. Последовательности были выровнены и отредактированы с помощью программы BioEdit (Hall, 1999). Карты распространения изученных образцов построены с использованием программы SimpleMappr (Shorthouse, 2010).

Результаты и обсуждение. *Raemonia anomala* имеет обширный ареал, охватывающий европейскую часть России, Сибирь, Казахстан, Монголию и Китай, и представляет собой наиболее успешный вид рода. В естественных условиях *P. anomala* размножается только семенами, завязывающимися после перекрестного опыления. Численность вида на протяжении ареала может сильно варьировать. На-

пример, на северо-западной границе распространения (Кольский полуостров) вид достаточно редок и представлен малочисленными разрозненными популяциями.

Одной из причин успешного освоения большой территории может быть гибридное происхождение вида (Rieseberg et al., 2003). Согласно молекулярным данным *P. anomala* возник в результате гибридизации китайского вида *P. veitchii* и *P. lactiflora* (Pan et al., 2007). Данные о пластидных маркерах подтверждают, что *P. anomala* проявляет большое сходство с *P. lactiflora*, но не с *P. veitchii*. Современное распространение *P. anomala* не пересекается с ареалами его родителей, *P. veitchii* и *P. lactiflora*, встречающимися в южных и восточных регионах Китая. Фенология этих регионов различна, что позволяет предположить, что новая адаптация, скорее всего, возникла в результате гибридизации (Pan et al., 2007).

Проведенный нами анализ молекулярных данных выявил генетическую дифференциацию *Raeonia anomala*. У гена *usc1* обнаружено три гаплотипа (H1, H2, H3), характеризующихся двумя нуклеотидными заменами. Помимо этого, гаплотип H3 проявляет большее сходство с *P. lactiflora*, чем гаплотипы H1 и H2, и, следовательно, представляет собой плезiomорфное состояние.

Все три гаплотипа *usc1* встречаются в Алтайском регионе (рис. 1). При этом гаплотип H1 ограничен Алтайским краем, Новосибирской областью и Красноярским краем. Гаплотип H2 имеет преимущественно северное и северо-западное распространение, достигая Мурманской области. Гаплотип H3 имеет преимущественно восточное распространение, достигая Монголии. Таким образом, вариативность фрагмента гена *usc1* определяет филогеографическую структуру популяций *P. anomala*. Можно предположить, что при расселении вида и освоении им новых пространств на территории Алтайского региона возникли новые гаплотипы, предопределившие генетическое разнообразие вида и получившие дальнейшее распространение в западном и северном направлении.

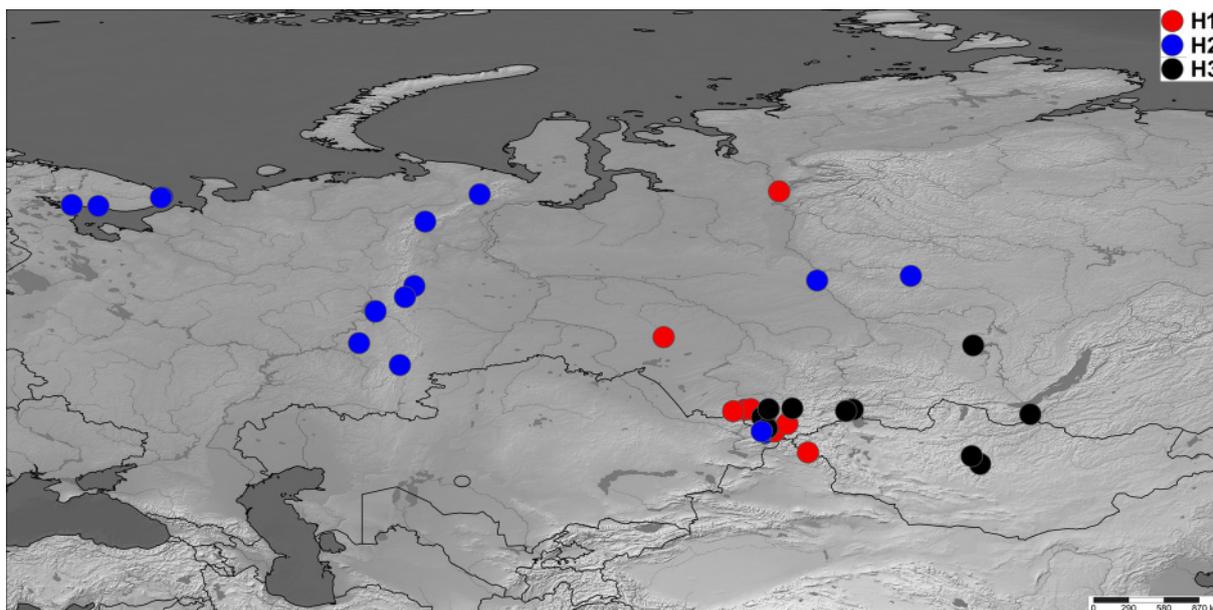


Рис. 1. Карта, показывающая географическое расположение 36 образцов *Raeonia anomala* с их гаплотипами *usc1*. Гаплотип H1 отмечен красным цветом, гаплотип H2 – синим, гаплотип H3 – черным.

В заключении можно отметить, что проведенное нами исследование широко распространенного и морфологически изменчивого вида *Raeonia anomala* выявило также гетерогенность на генетическом уровне, и важную роль в становлении генетического разнообразия сыграл Алтайский регион. В свете полученных данных особую актуальность приобретают слова И. В. Верещагиной: «Сберечь алтайские пионы, как и другие редкие исчезающие виды, изолированно от условий их произрастания невозможно. Важно сберечь не только отдельных представителей определённого вида, но вид в целом во всем его многообразии, все популяции вида» (Верещагина, 2003).

Благодарности. Выражаем глубокую благодарность сотрудникам национального парка «Югыд ва», Кандалакшского заповедника и Катунского биосферного заповедника за помощь в организации полевых исследований, а также сотрудникам гербариев ALTB, LE, MW и МНА за помощь в нашей работе.

ЛИТЕРАТУРА

Верещагина И. В. Дикорастущие пионы Алтая. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2003. – 230 с.

Ефимов С. В., Дегтярева Г. В., Терентьева Е. И., Самигуллин Т. Х., Вальехо-Роман К. М. Взаимоотношение видов *Paeonia anomala*, *P. intermedia* и *P. hybrida* (Paeoniaceae) по данным о последовательностях ITS ядерной рибосомной ДНК и *ycf1* хлоропластной ДНК // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, 2016. – Т. 15, № 1. – С. 112–116.

Degtjareva G., Efimov S. The genetic diversity of *Paeonia anomala* (Paeoniaceae), as indicated by nuclear ITS and plastid *ycf1* molecular markers // BIO Web Conf., 2021. – Vol. 38, N. 00023. – P. 1–4. DOI: 10.1051/bioconf/20213800023

Dong W., Xu C., Li C., Sun J., Zuo Y., Shi S., Cheng T., Guo J., Zhou S. *Ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants // Sci. Rep., 2015. – Vol. 5. – P. 8348. DOI: 10.1038/srep08348

Hall T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids Symp., 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.

Hong D. Y. Peonies of the World. Taxonomy and Phytogeography. – London: Kew Publishing, St. Louis: Missouri Botanic Garden, 2010. – 302 p.

Hong D. Y., Pan K. Y. A taxonomic revision of the *Paeonia anomala* complex (Paeoniaceae) // Ann. Missouri Bot. Gard., 2004. – Vol. 91. – P. 87–98.

Pan J., Zhang D., Sang T. Molecular phylogenetic evidence for the origin of a diploid hybrid of *Paeonia* (Paeoniaceae) // Am. J. Bot., 2007. – Vol. 94. – P. 400–408. DOI: 10.3732/ajb.94.3.400

Punina E. O., Machs E. M., Krapivskaya E. E., Kim E. S., Mordak E. V., Myakoshina Yu. A., Rodionov A. V. Interspecific hybridization in the genus *Paeonia* (Paeoniaceae): polymorphic sites in transcribed spacers of the 45S rRNA genes as indicator of natural and artificial peony hybrids // Russ. J. Genet., 2012. – Vol. 48. – P. 684–697. DOI: 10.1134/S1022795412070113

Rieseberg L. H., Raymond O., Rosenthal D. M., Lai Z., Livingstone K., Nakazato T., Durphy J. L., Schwarzbach A. E., Donovan L. A., Lexer C. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization // Science, 2003. – Vol. 301. – P. 1211–1216. DOI: 10.1126/science.1086949

Sang T., Crawford D. J., Stuessy T. F. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995. – Vol. 92. – P. 6813–6817. DOI: 10.1073/pnas.92.15.6813

Sang T., Crawford D. J., Stuessy T. F. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae) // Am. J. Bot., 1997. – Vol. 89. – P. 1120–1136. DOI: 10.2307/2446155

Sang T., Pan J., Zhang D., Ferguson D., Wang C., Pan K. Y., Hong D. Y. Origins of polyploids: as example from peonies (*Paeonia*) and a model for angiosperms // Biol. J. Linn. Soc., 2004. – Vol. 82. – P. 561–571. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2004.00341.x

Shorthouse D. P. 2010. SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. URL: <http://www.simplemappr.net>.

Wang S. Q. Karyotype in *Paeonia intermedia* C. A. Mey // Bangladesh J. Bot., 2014. – Vol. 43. – P. 101–105. DOI: 10.3329/bjb.v43i1.19758