

УДК 582.893.6+575

Филогенетическое положение *Phlojodicarpus villosus* (Apiaceae) на основе анализа последовательностей ITS и trnH-psbA

О. Е. Валуйских^{1,2*}, Д. М. Шадрин^{1,3}

¹ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар, 167982, Россия

² E-mail: valuyskikh@ib.komisc.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2359-1731>

³ E-mail: shdima@ib.komisc.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4365-0145>

* Автор для переписки

Ключевые слова: вздутоплодник, ДНК-штрихкодирование, генетическое разнообразие растений, гербарные коллекции, Красная книга, Республика Коми, Урал, ITS.

Аннотация. В международных открытых генетических базах данных отсутствуют сведения о нуклеотидных последовательностях для *Phlojodicarpus villosus*. Этот вид сосудистых растений представлен на Урале изолированными реликтовыми популяциями и включен в региональные Красные книги. Совместное применение ядерного и хлоропластного маркеров позволило надежно определить филогенетическое положение *P. villosus* в пределах трибы *Selineae* (подсемейство *Apioideae*, семейство *Apiaceae*). Установлено, что нуклеотидные последовательности ITS1-ITS2 и *trnH-psbA* достаточно информативны для того, чтобы идентифицировать представителей данного рода. Высокий полиморфизм полученных последовательностей *P. villosus* из разных частей ареала (Северный Урал и Колымское нагорье) и наличие эволюционных событий (делеции) оправдывает более пристальное изучение *P. villosus* и других таксонов рода *Phlojodicarpus* с использованием молекулярно-генетических методов.

Phylogenetic position of *Phlojodicarpus villosus* (Apiaceae) based on ITS and trnH-psbA nucleotide sequences

O. E. Valuyskikh, D. M. Shadrin

*Institute of Biology of Komi Scientific Center of Ural Branch of Russian Academy of Sciences,
Kommunisticheskaya str., 28, Syktyvkar, 167982, Russian Federation*

Keywords: DNA barcoding, herbarium collections, ITS, Komi Republic, *Phlojodicarpus*, plant genetic diversity, Red Data Book, Ural.

Summary. The aim of our work was to obtain chloroplast (*trnH-psbA*) and nuclear (ITS1-ITS2) DNA nucleotide sequences and identify the phylogenetic position of *Phlojodicarpus villosus* (Apiaceae). This species of vascular plants is represented in the Urals by isolated relic populations and is included in the regional Red Data Books. There is no data on *P. villosus* nucleotide sequences in the international open genetic databases. We studied two herbarium specimens of *P. villosus*, one collected from the Ural part of its range in the Komi Republic (Northern Urals) and the second collected from the main part of its range in the Magadan Region (Kolyma Highlands). Combining nuclear and chloroplast markers made it possible to reliably determine phylogenetic position of *P. villosus* within the tribe *Selineae* (subfamily *Apioideae*, family *Apiaceae*). We found ITS1-ITS2 and *trnH-psbA* nucleotide sequences to be sufficiently informative to identify specimens of this genus. High polymorphism of *P. villosus* sequences obtained from different parts of its range (Northern Urals and Kolyma Highlands) and the presence of evolutionary events (deletions) require more detail study of *P. villosus* and other *Phlojodicarpus* taxa by DNA barcoding methods.

Введение

С развитием молекулярно-генетических методов стала возможна таксономическая идентификация организмов с использованием различных молекулярных маркеров, в том числе применяемых в ДНК-штрихкодировании (DNA-barcoding). Общепринятыми и утвержденными международным консорциумом BOLD нуклеотидными последовательностями, используемыми в ДНК-штрихкодировании сосудистых растений, являются последовательности хлоропластных генов *matK*, *rbcL*, хлоропластного межгенного спейсера *trnH-psbA* и участка ядерной ДНК – ITS2 (Hebert et al., 2003; CBOL Plant Working Group, 2009; Kress, Erickson, 2012; Kress, 2017). Перечисленные локусы и их комбинации с разной разрешающей способностью «работают» в определенных таксономических группах растений и с разным успехом идентифицируют виды (Shneyer, 2009a, b; Matveeva et al., 2011; Kuzmina et al., 2017; Shneyer, Rodionov, 2018; Zhokhova et al., 2019). С начала своего применения метод ДНК-штрихкодирования организмов относительно устоялся, стали очевидными его достоинства и ограничения (Shekhovtsov et al., 2019).

Ariaceae Lindl. (Umbelliferae Juss.) является одним из крупных и важных в хозяйственном отношении семейством цветковых растений, которое насчитывает более 3800 видов, включая сложные видовые комплексы с высоким уровнем морфологической изменчивости (Kljuykov et al., 2018). В настоящее время систематика Ariaceae является предметом дискуссий. Для идентификации таксонов этого семейства наиболее популярной является система, основанная на анатомии и морфологии плодов (Pimenov, Leonov, 1993; Pimenov, 2012). Однако традиционная карпологическая классификация во многих случаях не совсем корректно отражает эволюционные взаимоотношения внутри Ariaceae (Downie et al., 2010). Применение современных молекулярно-генетических методов позволило по-новому подойти к вопросам систематики, пересмотреть филогенетические взаимоотношения таксонов и провести корреляции молекулярных данных с морфологической классификацией. Наиболее полный филогенетический анализ семейства Ariaceae проведен с использованием участков ITS ядерной ДНК (Downie et al., 2001, 2010; Vanasiak et al., 2013). Для идентификации таксонов Ariaceae, помимо ITS, многие исследователи используют последовательность межгенного спей-

сера *trnH-psbA* хлДНК (Degtjareva et al., 2012) или комбинацию участков ITS1-ITS2 и *trnH-psbA*, которая также дает хорошее разрешение для разграничения видов и может применяться как надежный ДНК-штрихкод (Liu et al., 2014).

Наличие качественных библиотек ДНК-штрихкодов растений как универсальной маркерной системы является необходимой составляющей для всестороннего изучения биоразнообразия: систематических, филогенетических, популяционных и экологических исследований (Kress et al., 2015), а также для решения практических задач (Kress, 2017; Zhokhova et al., 2019). Несмотря на активное создание и пополнение открытых библиотек штрихкодов для растений (Benson et al., 2004; Bhargava, Sharma, 2013; BOLD Systems, 2021), все еще остаются таксоны разного ранга, для которых отсутствуют молекулярные данные и существует проблема надежного определения их места на филогенетическом дереве. Пробелы в справочных библиотеках ДНК-штрихкодов встречаются как для конкретных таксономических групп, так и для стран и/или географических областей (Weigand et al., 2019; Shadrin et al., 2020).

Одним из таких потенциально новых таксонов для молекулярной систематики является представитель семейства Ariaceae – *Phlojodicarpus villosus* (Turcz. ex Fisch. et C. A. Mey.) Turcz. ex Ledeb. (вздутоплодник мохнатый или в. волосистый). Этот вид впервые был описан по сборам С. Н. Турчанинова из Прибайкалья как *Libanotis villosa* Turcz. ex Fisch. et C. A. Mey.; лектотип хранится в гербарии Ботанического института имени В. Л. Комарова РАН (LE) (Siplivinsky, 1970; Pimenov, Ostroumova, 2012). *Phlojodicarpus villosus* – преимущественно сибирский (североазиатский) гипоаркто-монтанный вид с обширным дизъюнктивным ареалом. Его разрозненные участки расположены в арктических районах Восточной Сибири и на Дальнем Востоке, в Южной Сибири, Казахстане, Северной Монголии и Китае (Tikhomirov, 1980; Pimenov, 1996, 2020; Sekretareva, 2004; Menglan, Watson, 2005; Flora of Mongolia, 2010). Уральский фрагмент ареала *P. villosus* охватывает вершины Северного и Приполярного Урала, где этот вид представлен изолированными популяциями на западной границе распространения и встречается в составе разнотравных мохово-лишайниковых горных тундр, среди крупнокаменных россыпей и на скальных обнажениях коренных пород (Lavrchenko et al., 1995; Chikurova, Valuyskikh, 2019;

Valuyskikh, Kanev, 2019). В Уральском регионе *P. villosus* подлежит охране и как плейстоценовый реликт включен в Красные книги Республики Коми (Ulle, Valuyskikh, 2019), Свердловской области (Knyazev, 2018), Ханты-Мансийского автономного округа (Vasina, 2013), Приложение к Красной книге Пермского края (Belkovskaya, 2014; Krasnaya kniga, 2018).

В роде *Phlojodicarpus* выделяют три вида (*P. villosus*, *P. sibiricus* (Fisch. ex Spreng.) Koso-pol., *P. komarovii* Gorovoj), распространенные преимущественно в России (Pimenov, Ostroumova, 2012) и практически не изученные с точки зрения молекулярной систематики. Согласно данным S. R. Downie et al. (2010), род *Phlojodicarpus* (представленный в работе видом *P. popovii* Sipliv. – синонимом *P. sibiricus* var. *baicalensis* Serg.) демонстрирует сходство по маркеру ITS с родом *Seseli* L. Сведения о нуклеотидных последовательностях для других представителей рода *Phlojodicarpus* в публикациях и генетических базах данных нами не обнаружены.

Цель настоящей работы заключалась в секвенировании *trnH-psbA* и ITS1-ITS2 последовательностей ранее не изученного в этом отношении вида *Phlojodicarpus villosus*, получении новых сведений о филогенетическом положении и оценке возможности применения перечисленных маркерных последовательностей для идентификации этого редкого на Урале таксона.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили два гербарных образца *P. villosus*, собранные на территории уральского фрагмента ареала в Республике Коми (№ SYKO-PV-17614, сборы А. Н. Лавренко, З. Г. Улле, Н. П. Сердитова, 2 VIII 1990, Северный Урал, г. Янывондерсяхал) и основной части ареала в Магаданской области (№ SYKO-PV-17613, сборы А. П. Хохрякова, 18 VII 1973, Колымское нагорье). Анализ морфологических признаков особей проведен с применением бинокля; особое внимание уделено структуре плодов (Pimenov, Ostroumova, 2012; Kljukov et al., 2018; Ostroumova, 2018). Помимо гербарных образцов, использованных для получения ДНК, для сравнительно-морфологического анализа привлечены другие экземпляры *P. villosus*, хранящиеся в фондах гербария Института биологии Коми НЦ УрО РАН, а также живые растения, собранные авторами в 2017 г. на Северном Урале. Оцифровка изученных гер-

барных образцов *P. villosus* проведена авторами по международным стандартам в сопровождении 24-цветной шкалы и масштабной линейки на гербарном листе. Фотографии частей растений сделаны под стереоскопическим микроскопом МБС-10 (Россия) с увеличением 2.0× и 4.0× при помощи камеры Leica (смартфон Huawei Mate 20).

Тотальную ДНК выделяли из высушенных листьев с помощью набора «DNeasy Plant Mini Kit» (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкциями производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) фрагментов проводили в 50 мкл смеси, содержащей 10 мкл ScreenMix (Евроген, Россия), 10 мкл каждого праймера (0,3 мкМ) (Евроген, Россия), 18 мкл ddH₂O (Ambion, США) и 2 мкл ДНК-матрицы (1 ÷ 100 нг). Последовательности фрагмента *trnH-psbA* амплифицированы с использованием праймеров *trnH2* (5'-CGCGCATGGTGGATTTCACAATCC-3') и *psbAF* (5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3') (Tate, Simpson, 2003); фрагмента ITS1-ITS2 – с использованием праймеров ITS-5 (5'-GGAAG-TAAAAGTCGTAACAAGG-3') и ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Baldwin, 1995). Термоциклирование включало предварительную денатурацию в течение пяти минут при температуре 95 °С и далее 35 циклов, включающие: денатурацию в течение 60 сек. при температуре 95 °С, отжиг праймеров в течение 30 сек. при температуре 60 °С (для *trnH-psbA*) и 55 °С (для ITS1-ITS2) и элонгацию в течение 40 сек. при температуре 72 °С, с окончательной элонгацией в течение 5 минут при температуре 72 °С. Выделение ДНК, ПЦР и секвенирование проводили с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар.

Авторами была сделана попытка амплифицировать фрагменты генов *matK* и *rbcL* хлДНК, рекомендованные в качестве маркеров ДНК-штрихкодирования (CBOL Plant Working Group, 2009), с использованием универсальных праймеров для этих фрагментов KIM 3F; KIM 3R и SI_For; SI_Rev, соответственно (Kress et al., 2009). К сожалению, ни один из вариантов не позволил получить желаемый ампликон. Предполагаем, что определенные проблемы возникли с невозможностью посадки используемых праймеров. Специфичные праймеры для представителей исследуемого семейства нами не найдены.

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с применением алгоритма ClustalW в программе Mega X

(Thompson et al., 1994; Kumar et al., 2018). Для образцов *P. villosus* мы получили полноразмерный фрагмент ITS1-5.8S-ITS2, однако в анализируемую матрицу не включен участок 5.8S, т. к. эта промежуточная область отсутствует у многих представителей семейства Ариацеае, доступных в Genbank, и часто не используется в работе с последовательностями (Banasiak et al., 2013).

Филогенетические деревья строили с использованием метода максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML). При построении деревьев использованы нуклеотидные последовательности, полученные нами для *P. villosus*, а также данные других авторов для представителей Ариацеае, доступные в базах данных Genbank (NCBI, 2021) и BOLD Systems (BOLD Systems, 2021). В качестве внешней группы при реконструкции филогенетических деревьев выбраны виды из сестринского семейства Аралиацеае.

В данном исследовании мы обсуждаем филогенетическое дерево, полученное отдельно для ITS1-ITS2, а также для объединенного набора

данных *trnH-psbA* + ITS2. Новые последовательности для *P. villosus* депонированы в GenBank (MW082633, MW829533 – номера последовательностей для *P. villosus* с Северного Урала, Республика Коми); MW082634, MW829534 – номера последовательностей для *P. villosus* с Колымского нагорья, Магаданская область).

Результаты и их обсуждение

Морфология

P. villosus – многолетнее травянистое поликарпическое растение 23–40 см высотой, с мощным разветвленным каудексом (рис. 1). Стебли толстые, полые, бороздчатые, в основании густо одетые многочисленными волокнистыми влагалищами старых листьев. Соцветия – зонтики, одиночные или по несколько на цветоносном побеге, 3–10 см в диаметре, с 8–30 лучами. Лепестки венчика белые, на верхушке выемчатые, загнутые внутрь.



Рис. 1. *Phlojodicarpus villosus* в местах естественного произрастания на Урале: А, В – внешний вид генеративного растения (место произрастания – г. Янывондерсяхал, Северный Урал); С – вегетативное растение; D – семяное растение с остатками цветоносов прошлых лет. Фото – О. Е. Валуйских (С, D), О. Е. Чегодаев (А, В).

Генеративные растения *P. villosus* из разных частей ареала, использованные для выделения ДНК, несколько различаются по морфологии (рис. 2, 3), однако имеют все диагностические признаки для точной видовой идентификации. Основными признаками, используемыми при разграничении *P. villosus* с другими видами рода *Phlojodicarpus*, являются густоволосистые лучи зонтиков, зонтичков и листочков обертки, а также опушенные плоды (Pimenov, Ostroumova, 2012). Отметим, что у *P. popovii*, входящего в комплекс *P. sibiricus*, подобное опушение отсутствует, перечисленные части соцветия и плоды почти голые или редко опушенные.

У изученных образцов *P. villosus* листочки обертки в числе 6–11, цельные, длиннозаостренные, опушенные. Лучи зонтика и зонтичков по-

крыты густыми волосками у образца с Северного Урала (рис. 2D, E) и более разреженными волосками у образца с Колымского нагорья (рис. 3B, C). Мерикарпии 4–7 мм длиной, 2,5–4 мм шириной, с густыми волосками и утолщенными ребрами (рис. 2B, C). Конечные сегменты листьев яйцевидные, с ланцетными долями до 6 мм длиной, 0,8–1,5 мм шириной (рис. 2E, 3D).

Анализ последовательностей и филогенетическое положение

Матрица данных для последовательности ITS1-ITS2 включала 412–422 пар нуклеотидов (п. н.), для последовательности *trnH-psbA* – 189–198 п. н. Матрица объединенных данных по двум маркерам (ITS2 + *trnH-psbA*) имела длину 601–620 п. н.

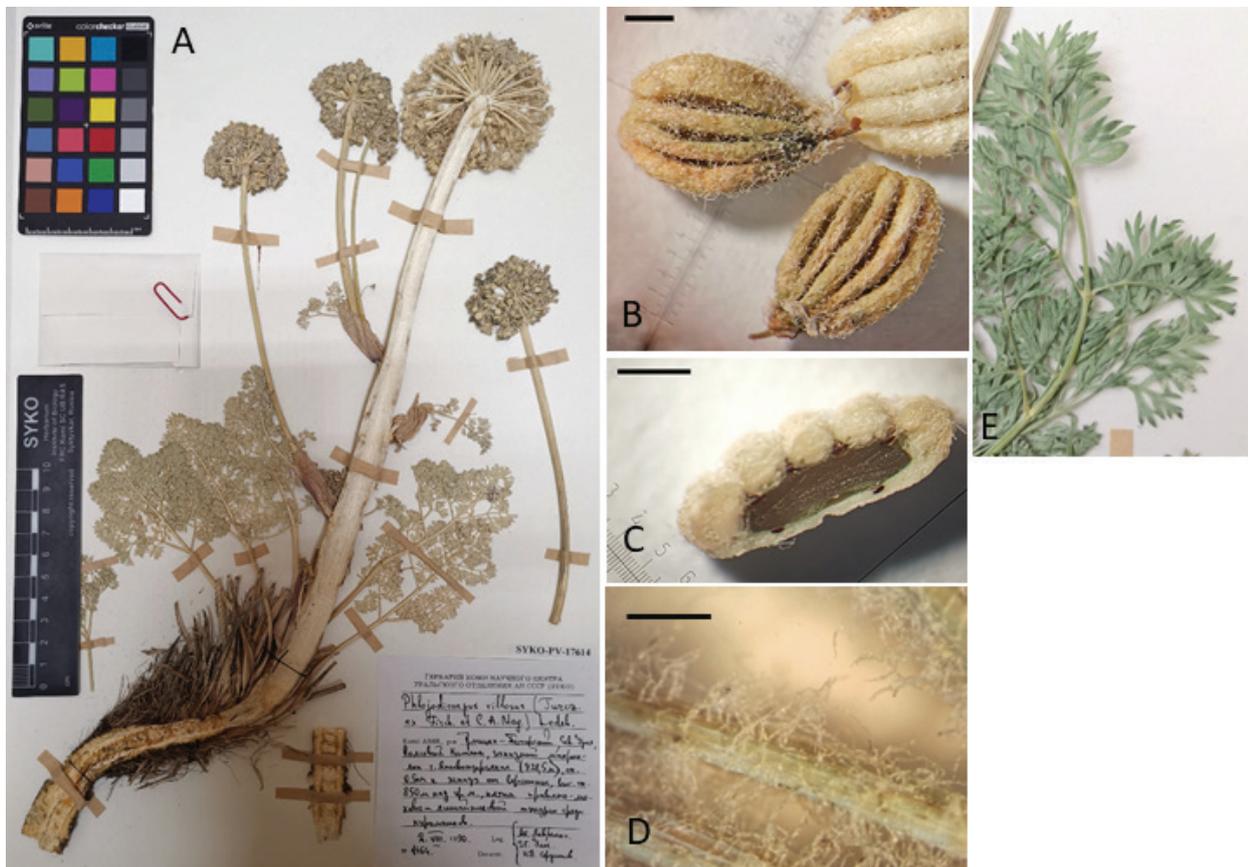


Рис. 2. Изученный гербарный образец *Phlojodicarpus villosus* с Северного Урала, Республика Коми (№ SYKO-PV-17614): А – гербарный лист с плодоносящим генеративным растением; В – плоды; С – поперечный срез мерикарпии; D – лучи зонтичков с курчавыми волосками; E – прикорневой лист. Шкала – 1 мм.

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ITS1-ITS2, полученных нами для двух образцов *P. villosus* из разных частей ареала (Северный Урал и Колымское нагорье) и близкого вида *P. popovii*, взятого из GenBank, позволил выявить семь вариабельных позиций

(таблица). Образцы *P. villosus* отличаются от *P. popovii* трансверсией (Т-А) в положении 157 ITS1 и (С-А) в положении 180 ITS2. Установлено, что в последовательности ITS1-ITS2 у образца *P. villosus* с Колымского нагорья присутствуют гибридные пики, что может указывать на то,

что родители имели разную рДНК и свидетельствовать о гибридном происхождении образца (Mateikovich et al., 2020).

При сравнении последовательностей *trnH-psbA* между образцами *P. villosus* из разных частей ареала (Северный Урал и Колымское нагорье) отмечено шесть вариабельных позиций. Для образца из Колымского нагорья изменчивость выражается в наличии четырех замен, вставки и делеции (таблица). Присутствие делеций характерно для представителей семейства Апиасеае и, по данным Г. В. Дегтяревой с соавт. (Degtjareva

et al., 2012), обусловлено сильной вариабельностью области, прилегающей к гену *trnH*. Мы предполагаем, такое проявление внутривидового полиморфизма может быть связано с рядом причин, среди которых можно выделить географическую обособленность популяций *P. villosus* в разных частях ареала (уральский фрагмент и основная часть ареала на Дальнем Востоке) и отражать изменчивость как на видовом, так и, вероятно, на более высоком таксономическом уровне.

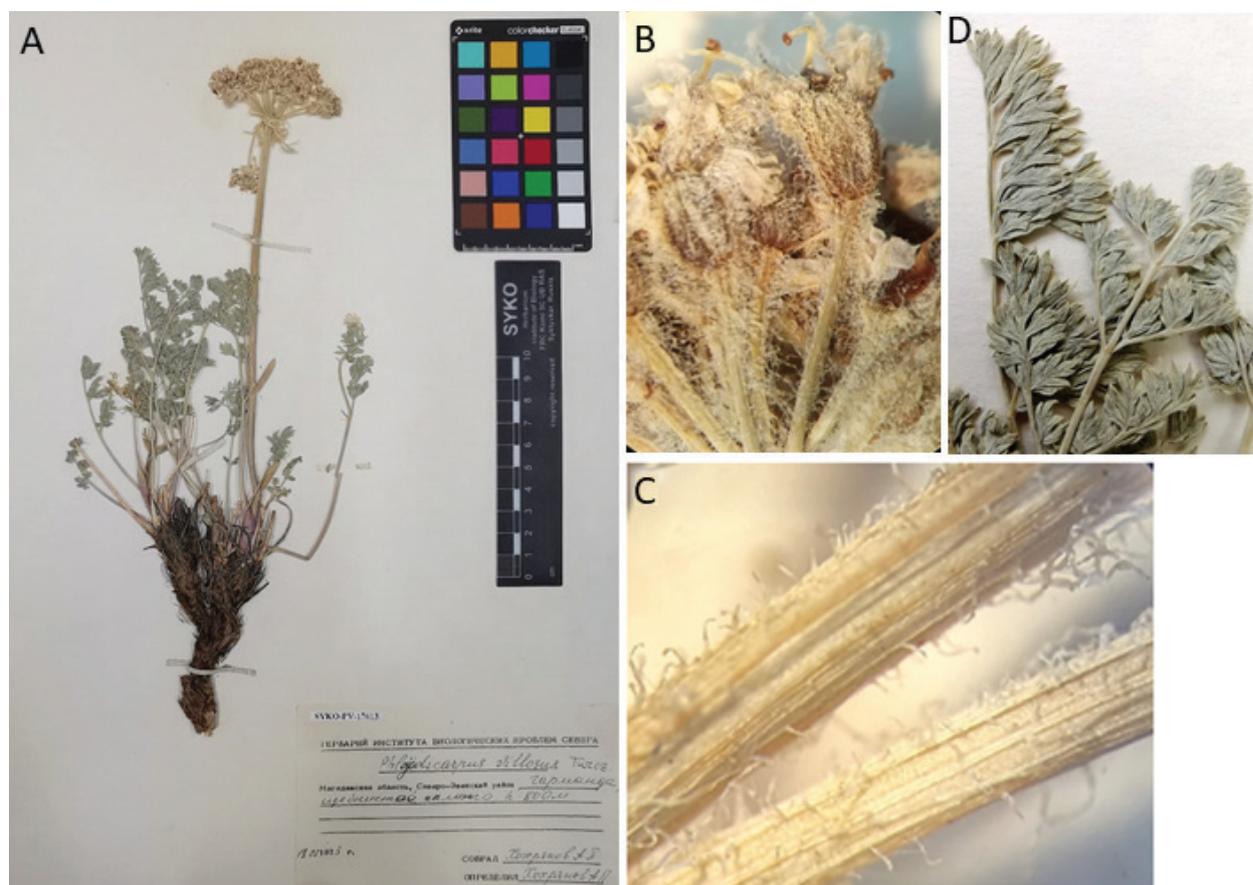


Рис. 3. Изученный гербарный образец *Phlojodicarpus villosus* с Колымского нагорья, Магаданская область (№ SYKO-PV-17614): А – гербарный лист с цветущим генеративным растением; В – зонтики во время цветения; С – лучи зонтиков с курчавыми волосками; D – прикорневой лист.

Мы реконструировали филогенетическое дерево для объединенного набора данных (ITS2 + *trnH-psbA*), представленного двумя образцами *P. villosus*, 14 образцами других родов семейства Апиасеае и одного вида внешней группы (рис. 4).

Pimpinella saxifraga L. (триба *Pimpinelleae* Spreng.) является первым ответвлением на филогенетическом дереве в пределах таксонов подсемейства *Apioideae* Seem. и наиболее близко расположено к корню. Остальные виды сгруппи-

ровались в две монофилитичные клады. В одну кладу вошли виды из родов *Daucus* L., *Anthriscus* Pers., *Ferula* L., *Turgenia* Hoffm. (триба *Scandiceae* Spreng.) и *Smyrniium* L. (триба *Smyrnieae* W. D. J. Koch). Во вторую кладу с высоким уровнем поддержки (бутстреп 93 %) сгруппировались все близкородственные таксоны из родов *Angelica* L., *Seseli*, *Peucedanum* L. (триба *Selineae* Spreng.), виды *Heracleum* L. (триба *Tordylieae* W. D. J. Koch) и представители родов *Pleurosper-*

mut Hoffm. и *Ligusticum* L. (“*Acronema* Clade”, по Downie et al., 2010). В этой же кладе в пределах трибы *Selineae* разместились два образца *P. villosus*.

Деревья, реконструированные на основе последовательностей маркеров по отдельности, имели схожую топологию с деревом, построенном на основе объединенных данных. Именно это позволило провести анализ совмещенной последовательности ядерного и хлоропластного фрагментов. Филогенетическое дерево для ITS1-ITS2 содержит похожий набор видов (рис. 5), при этом включает большее число так-

сонов трибы *Selineae* (Banasiak et al., 2013) и *Phlojodicarpus popovii* (синоним *P. sibiricus* var. *baicalensis* Serg.). На филогенетическом дереве видно, что два образца *P. villosus* и *P. popovii* разместились рядом в общей внутренней кладе в пределах трибы *Selineae*. В этой же кладе оказались близкородственные представители родов *Ferulopsis* Kitag., *Seseli*, *Libanotis*, *Pachypleurum* Ledeb., которые были привлечены для построения ITS-дерева и, согласно L. Banasiak et al. (2013, Supporting information), входят в одну кладу с *Phlojodicarpus*.

Таблица

Полиморфные нуклеотидные позиции участков *trnH-psbA* и ITS1-ITS2 для *Phlojodicarpus villosus*

Образец/Номера нуклеотидов	регион <i>trnH-psbA</i>													
	54	81	85	103	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164
<i>P. villosus</i> MW082633, Северный Урал	C	G	-	T	T	C	T	T	T	A	A	T	A	C
<i>P. villosus</i> MW082634, Колымское нагорье	T	T	C	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
	регион ITS1						регион ITS2							
	113		157		234		96		118		180		199	
<i>P. villosus</i> MW829533, Северный Урал	C		T		M		C		G		C		G	
<i>P. villosus</i> MW829534, Колымское нагорье	Y		T		M		Y		R		C		R	
<i>P. popovii</i> AF008604.1, AF009083.1	C		A		C		C		G		A		A	

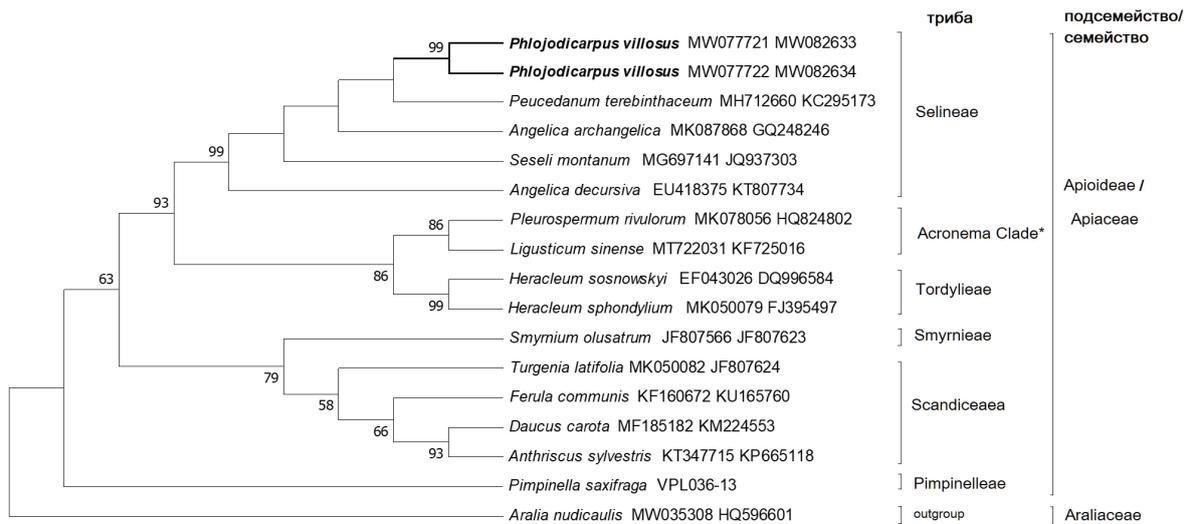


Рис. 4. Объединенное филогенетическое дерево (ITS2 + *trnH-psbA*), построенное методом максимального правдоподобия (ML) для 15 видов семейства Апиáceе и одного образца внешней группы (*Aralia nudicaulis*). Два новых образца *Phlojodicarpus villosus* выделены жирным шрифтом. Уровень поддержки ML указан вдоль ветвей. Значения ниже 50 % не отображаются. Примеч.: * – группа таксонов, объединенных в “*Acronema* Clade” (Downie et al., 2010).

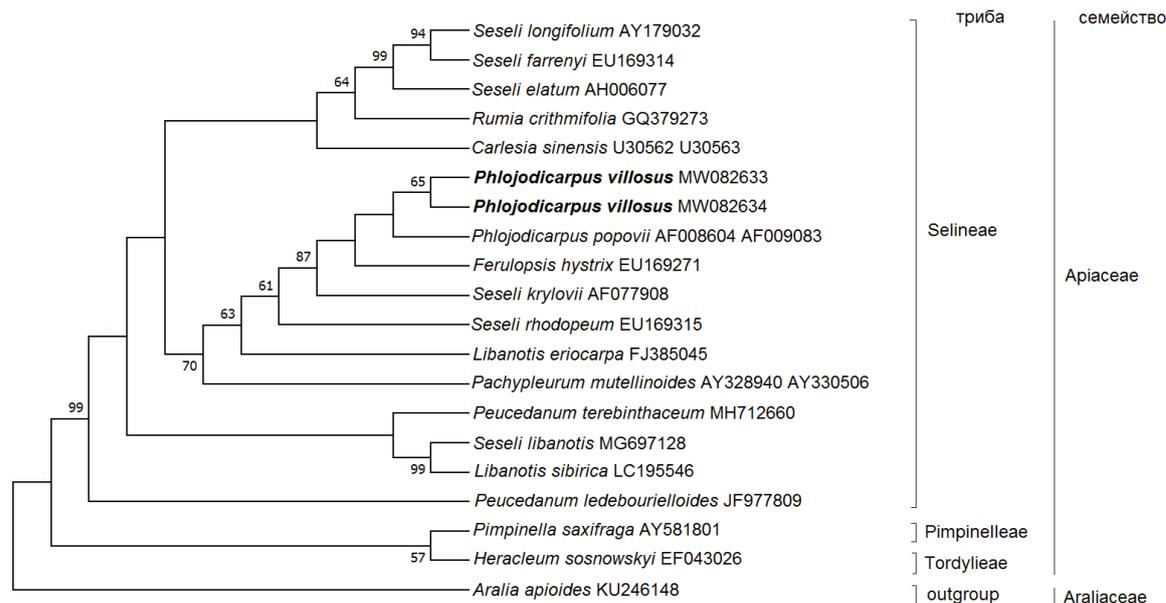


Рис. 5. Филогенетическое дерево ITS1-ITS2, построенное методом максимального правдоподобия (ML) для 16 видов трибы *Selineae*, двух видов триб *Pimpinelleae* и *Tordylleae* (Apiaceae), и одного образца внешней группы (*Aralia apioides*). Два новых образца *Phlojodicarpus villosus* выделены жирным шрифтом. Уровень поддержки ML указан вдоль ветвей. Значения ниже 50 % не отображаются.

Филогенетическое положение *P. villosus* и принадлежность к трибе *Selineae* согласуется с молекулярной системой подсемейства *Apioidae* на основе анализа последовательностей ITS (Downie et al., 2010) и коррелирует с традиционной морфологической классификацией (Pimenov, 2012; Pimenov, Ostroumova, 2012).

Заключение

Впервые для *P. villosus* секвенированы последовательности участков внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной ДНК ITS1-ITS2 и участка хлоропластного межгенного спейсера *trnH-psbA*, показана их вариабельность. Применение участка ITS1-ITS2 ядерной ДНК позволило надежно определить филогенетическое положение *P. villosus* среди близких таксономических групп в пределах трибы *Selineae* (подсемейство *Apioidae*, семейство Apiaceae).

Высокий полиморфизм полученных нами последовательностей ITS1-ITS2 и *trnH-psbA* и наличие эволюционных событий (делеции) оправдывают более пристальное изучение *P. villosus* и рода *Phlojodicarpus* в целом с использованием молекулярно-генетических методов. Помимо этого, обращает на себя внимание изменчивость включенных в анализ гербарных образцов *P. villosus* из разных частей ареала: *P. villosus* с Колымского нагорья (Магаданская область) имеет

не такое обильное опушение частей соцветия, как образец с Северного Урала. С учетом того, что в последовательности ITS1-ITS2 у *P. villosus* с Колымского нагорья существует множество гибридных пиков и на Дальнем Востоке перекрываются ареалы двух видов вздутоплодника (*P. villosus* и *P. sibiricus*), это может указывать на возможность наличия межвидовой гибридизации. Для получения более полной и информативной картины необходимо проанализировать другие таксоны рода *Phlojodicarpus*, оценить следы межвидовой гибридизации и степень вариабельности ДНК, а также сопоставить эволюционную обособленность внутривидовых таксонов с их морфологическим своеобразием.

Благодарности

Авторы выражают особую благодарность к. б. н. Владимиру Алексеевичу Каневу (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар) за помощь в полевых работах и сбор гербарных образцов, а также признательны Ангелине Дмитриевне Чикуровой (Сыктывкарский государственный университет) за помощь в обработке данных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Коми (проект № 20-44-110011) в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН (№ АААА-А19-119011790022-1).

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Baldwin B. G., Sanderson M. J., Porter J. M., Wojciechowski M. F., Campbell C. S., Donoghue M. J.** 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82(2): 247–277. DOI: 10.2307/2399880
- Banasiak L., Piwczynski M., Ulinski T., Downie S. R., Watson M. F., Shakya B., Spalik K.** 2013. Dispersal patterns in space and time: a case study of Apiaceae subfamily *Apiodeae*. *Journal of Biogeography* 40(7): 1324–1335. DOI: 10.1111/jbi.12071
- Belkovskaya T. P.** 2014. Vegetation and flora of the Vishersky reserve. In: *Rastitelnost i flora, griby, lishayniki zapovednika "Visherskiy" [Vegetation and flora, mushrooms, lichens of the Vishersky reserve]*. Solikamsk. Pp. 18–258. [In Russian] (**Белковская Т. П.** Растительность и флора заповедника «Вишерский» // Растительность и флора, грибы, лишайники заповедника «Вишерский». Соликамск, 2014. С. 18–258).
- Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J., Ostell J., Wheeler D. L.** 2004. GenBank: update. *Nucleic Acids Research* 32: D23–D26. DOI: 10.1093/nar/gkh045
- Bhargava M., Sharma A.** 2013 DNA barcoding in plants: evolution and applications of in silico approaches and resources. *Mol. Phylogenet. Evol.* 67(3): 631–41. DOI: 10.1016/j.ympev.2013.03.002
- BOLD Systems.** 2021. Published on the Internet. URL: <http://www.boldsystems.org/> (Accessed 25 March 2021).
- CBOL Plant Working Group** 2009. A DNA Barcode for land plants. *PNAS* 106(31): 12794–12797. DOI: 10.1073/pnas.0905845106
- Chikurova A. D., Valuyskikh O. E.** 2019. Distribution, ecological-phytocenotic confinement and structure of populations of a rare species in the Urals *Phlojodicarpus villosus* (Apiaceae). In: *Biodiagnostika sostoyaniya prirodnykh i prirodno-tekhnogennykh sistem [Biodiagnostics of the state of natural and natural-man-made systems: Materials of All-Russian Scientific Conference]*. Kirov. Pp.199–202. [In Russian] (**Чикурова А. Д., Валуйских О. Е.** Распространение, эколого-фитоценотическая приуроченность и структура популяций редкого на Урале вида *Phlojodicarpus villosus* (Апиáceе) // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XVII Всеросс. науч.-практ. конф. Киров, 2019. С. 199–202).
- Degtjareva G. V., Logacheva M. D., Samigullin T. N., Terentieva E. I., Valiejo-Roman C. M.** 2012. Organization of chloroplast *psbA-trnH* intergenic spacer in dicotyledonous angiosperms of the family Umbelliferae. *Biochemistry Moscow* 77: 1056–1064. DOI: 10.1134/S0006297912090131
- Downie S. R., Plunkett G. M., Watson M. F., Spalik K., Katz-Downie D. S., Valiejo-Roman C. M., Terentieva E. I., Troitsky A. V., Lee B. Y., Lahham J., El-Oqlah A.** 2001. Tribes and clades within Apiaceae subfamily *Apiodeae*: The contribution of molecular data. *Edinburgh Journal of Botany* 58(2): 301–330. DOI: 10.1017/S0960428601000658
- Downie S. R., Spalik K., Katz-Downie D. S., Reduron J.-P.** 2010. Major clades within Apiaceae subfamily *Apiodeae* as inferred by phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences. *Plant Div. Evol.* 128: 111–136. DOI: 10.1127/1869-6155/2010/0128-0005
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., Dewaard J.** 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Royal Soc. Biological Sciences* 270: 313–321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218
- Kljuykov E. V., Ostroumova T. A., Zakharova E. A., Ukrainskaya U. A., Petrova S. E.** 2018. *Atlas plodov zontichnykh Yevropeyskoy chasti Rossii [Atlas of fruits of the Umbelliferae distributed across the European part of Russia]*. Moscow: Torius. 191 pp. [In Russian] (**Клюйков Е. В., Остроумова Т. А., Захарова Е. А., Украинская У. А., Петрова С. Е.** Атлас плодов зонтичных Европейской части России. М.: Ториус. 2018. 191 с. URL: <https://botsad.msu.ru/atlas/>)
- Knyazev M. S.** 2018. *Phlojodicarpus villosus*. In: *Krasnaya kniga Sverdlovskoy oblasti: zhivotnyye, rasteniya, griby [The Red Data Book of the Sverdlovsk region: animals, plants, fungi]*. Ekaterinburg: "Mir". P. 115. [In Russian] (**Князев М. С.** Вздуплодник мохнатый // Красная книга Свердловской области: животные, растения, грибы. Екатеринбург: ООО «Мир», 2018. С. 115).
- Krasnaya kniga Permskogo kraja. Prilozheniye [The Red Data Book of the Perm Territory. Supplement]**. 2018. [In Russian] (**Красная книга Пермского края. Приложение.** 2018. Электронная версия). URL: <http://redbook.permecology.ru>
- Kress W. J.** 2017. Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. *Journal of Systematics and Evolution. Special Issue: Frontiers in Plant Systematics and Evolution* 55(4): 291–307 DOI: 10.1111/jse.12254
- Kress W. J., Erickson D. L.** 2012. DNA barcodes: methods and protocols. *Methods in Molecular Biology* 858: 3–8. DOI: 10.1007/978-1-61779-591-6_1
- Kress W. J., Erickson D. L., Jones F. A., Swenson N. G., Perez R., Sanjur O., Bermingham E.** 2009. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(44): 18621–18626. DOI: 10.1073/pnas.0909820106
- Kress W. J., Garcí'a-Robledo C., Uriarte M., Erickson D. L.** 2015. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecol. et Evol.* 30(1): 25–35. DOI: 10.1016/j.tree.2014.10.008

- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K.** 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35(1): 1547–1549. DOI 10.1093/molbev/msy096
- Kuzmina M. L., Braukmann T. W. A., Fazekas A. J., Graham S. W., Dewaard S. L., Rodrigues A., Bennett B. A., Dickinson T. A., Saarela J. M., Catling P. M., Newmaster S. G., Percy D. M., Fenneman E., Lauron-Moreau A., Ford B., Gillespie L., Subramanyam R., Whitton J., Jennings L., Metsger D., Warne C. P., Brown A., Sears E., Dewaard J. R., Zakharov E. V., Hebert Paul D. N.** 2017. Using herbarium derived DNAs to assemble a large scale DNA barcode library for the vascular plants of Canada. *Applications in Plant Sciences* 5(12): 1700079. DOI: 10.3732/apps.1700079
- Lavrenko A. N., Ulle Z. G., Serditov N. P.** 1995. *Flora Pechoro-Ilychskogo biosfernogo zapovednika [Flora of the Pechora-Ilych biosphere reserve]*. St. Petersburg. 256 pp. [In Russian] (**Лавренко А. Н., Улле З. Г., Сердитов Н. П.** Флора Печоро-Ильчского биосферного заповедника. СПб., 1995. 256 с.).
- Liu J., Shi L., Han J., Li G., Lu H., Hou J., Zhou X., Meng F., Downie S. R.** 2014. Identification of species in the angiosperm family Apiaceae using DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources* 14(6): 1231–1238. DOI: 10.1111/1755-0998.12262
- Mateikovich P. A., Punina E. O., Kopylov-Guskov Yu. O., Nosov N. N., Gudkova P. D., Gnutikova A. A., Machs E. M., Mikhailova Yu. V., Krapivskaya E. E., Rodionov A. V.** ITS1-5.8S rDNA-ITS2 and trnL-trnF DNA sequences as markers for the study of Altai feather grasses species diversity. *Russian Journal of Genetics* 56(4): 417–428. DOI: 10.1134/S1022795420040067
- Matveeva T. V., Pavlova O. A., Bogomaz D. I., Lutova L. A., Demkovich A. E.** 2011. Molecular markers for plant species identification and phylogenetics. *Ecological Genetics* 9(1): 32–43. [In Russian] (**Матвеева Т. В., Павлова О. А., Богомаз Д. И., Демкович Е. А., Лутова Л. А.** Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экологическая генетика, 2011. Т. IX, № 1. С. 32–43).
- Menglan S., Watson M.** *Flora of Mongolia. Virtual Guide. Plant Database as Practacal Approach*. 2010. URL: <https://floragreif.uni-greifswald.de/>
- NCBI [2021]. National Center for Biotechnology Information.** Published on the Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed 25 March 2021).
- Ostroumova T. A.** 2018. Fruit micromorphology in the Umbelliferae of the Russian Far East. *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation* 7(1): 41–49. DOI: 10.17581/bp.2018.07107
- Pimenov M. G.** 1996. *Phlojodicarpus* Turcz. In: *Flora Sibiri [Flora of Siberia]*. Vol. 4. Ed. by L. I. Malyshev. Novosibirsk: Nauka. Pp. 180–182. [In Russian] (**Пименов М. Г.** *Phlojodicarpus* Turcz. // Флора Сибири. Под ред. Л. И. Малышева Т. 10. Новосибирск: Наука. 1996. С. 180–182).
- Pimenov M. G.** 2012. Family Apiaceae Lindl., Umbelliferae Juss. In: *Abstract of the flora of Asian Russia. Vascular plants*. Novosibirsk: SO RAS. 281–296 p. [In Russian] (**Пименов М. Г.** 2012. Семейство Apiaceae Lindl., Umbelliferae Juss. // Конспект флоры Азиатской России. Сосудистые растения. Новосибирск: СО РАН. С. 281–296).
- Pimenov M. G.** 2020. Updated checklist of the Umbelliferae of Middle Asia and Kazakhstan: nomenclature, synonymy, typification, distribution. *Turczaninowia* 23, 4: 127–257. [In Russian] (**Пименов М. Г.** Обновленный конспект зонтичных (Umbelliferae) Средней Азии и Казахстана: номенклатура, синонимия, типификация, распространение // *Turczaninowia*, 2020. Т. 23, № 4. С. 127–257). DOI: 10.14258/turczaninowia.23.4.12
- Pimenov M. G., Leonov M. V.** 1993. *The genera of the Umbelliferae*. A nomenclator. Kew: Royal Botanic Gardens. 156 pp.
- Pimenov M. G., Ostroumova T. A.** 2012. *Umbelliferae of Russia*. Moscow: KMK Scientific Press Ltd. 477 pp. [In Russian] (**Пименов М. Г. Остроумова Т. А.** Зонтичные (Umbelliferae) России. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2012. 477 с.).
- Sekretareva N. A.** 2004. *The Vascular Plants of the Russian Arctic and Adjacent Territories*. Moscow: KMK Scientific Press Ltd. 131 pp. [In Russian] (**Секретарева Н. А.** Сосудистые растения Российской Арктики и сопредельных территорий. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2004. 131 с.).
- Shadrin D., Valuyskikh O., Kanev V.** 2020. A checklist of the flowering plants of Komi Republic (northeast of European Russia) and their representation in BOLD and GenBank databases. *Acta Biologica Sibirica* 6: 357–367. DOI: 10.3897/abs.6.e54572
- Shekhovtsov S. V., Shekhovtsova I. N., Peltek S. E.** 2019. DNA barcoding: methods and approaches. *Biol. Bull. Rev.* 9: 475–483. DOI: 10.1134/S2079086419060057
- Shneyer V. S.** 2009a. DNA barcoding is a new approach in comparative genomics of plants. *Russian Journal of Genetics* 45(11): 1267–1278.
- Shneyer V. S.** 2009b. DNA barcoding of animal and plant species as an approach for their molecular identification and describing of diversity. *Biology Bulletin Reviews* 70(4): 296–315. [In Russian] (**Шнеер В. С.** ДНК-штрихкодирование видов животных и растений – способ их молекулярной идентификации и изучения био-разнообразия // Журн. общ. биол., 2009. Т. 70, № 4. С. 296–315).

Shneyer V. S., Rodionov A. V. 2018. Plant DNA Barcodes. *Biology Bulletin Reviews* 138(6): 531–537. [In Russian] (**Шнеер В. С., Родионов А. В.** ДНК-штрихкоды растений // Усп. совр. биол., 2018. Т. 138, № 6. С. 531–537). DOI: 10.7868/S0042132418060017

Siplivinsky V. N. 1970. Systematics and genesis of the genus *Phlojodicarpus* Turcz. ex Ledeb. *Novit. Syst. Pl. Vasc.* 7: 257–268. [In Russian] (**Сипливинский В. Н.** Систематика и генезис рода *Phlojodicarpus* Turcz. ex Ledeb. // Новости сист. высш. раст., 1970. № 7. С. 257–268).

Tate J. A., Simpson B. B. 2003. Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany* 28: 723–737. DOI: 10.1043/02-64.1

Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22(22): 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673

Tikhomirov V. N. 1980. Umbelliferae Juss. (Apiaceae Lindl.). In: *Arkticheskaya flora SSSR [Flora Arctica URSS]*. Iss. VIII. Leningrad. Pp. 88–90. [In Russian] (**Тихомиров В. Н.** Umbelliferae Juss. (Apiaceae Lindl.) – Зонтичные // Арктическая флора СССР. Вып. VIII. Под ред. А. И. Толмачева, Б. А. Юрцева. Л., 1980. С. 88–90).

Ulle Z. G., Valuyskikh O. E. 2019. *Phlojodicarpus villosus*. In: *Krasnaya kniga Respubliki Komi [The Red Data Book of the Komi Republic]*. Syktyvkar: Komi republikanskaya tipografiya. P. 430. [In Russian] (**Улле З. Г., Валуйских О. Е.** Вздуплодник мохнатый // Красная книга Республики Коми. Сыктывкар: ООО «Коми республиканская типография», 2019. С. 430).

Valuyskikh O. E., Kaney V. A. 2019. New data on distribution of rare vascular plant species at the Poyasovyi Kamen ridge (Northern Urals). *Bot. Zhurn.* 104(9): 1036–1043. [In Russian] (**Валуйских О. Е., Канев В. А.** Новые сведения о распространении редких видов сосудистых растений на хребте Поясовый Камень (Северный Урал) // Бот. журн., 2019. Т. 104, № 9. С. 1036–1043). DOI: 10.1134/S000681361909014X

Vasina A. L. 2013. *Phlojodicarpus villosus*. In: *Krasnaya kniga Hanty-Mansiyskogo avtonomnogo okruga – Yugry: zhivotnyye, rasteniya, griby [The Red Data Book of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra: animals, plants, fungi]*. Ekaterinburg: Publishing House Basco. P. 178. [In Russian] (**Васина А. Л.** Вздуплодник мохнатый // Красная книга Ханты-Мансийского автономного округа – Югры: животные, растения, грибы. Екатеринбург: Изд-во Баско, 2013. С. 178).

Weigand H., Beermann A. J., Ciampor F., Costa F. O., Csabai Z., Duarte S., Geiger M. F., Grabowski M., Rimet F., Rulik B., Strand M., Szucsich N., Weigand A. M., Willassen E., Wyler S. A., Bouchez A., Borja A., Ciamporova-Zatovicova Z., Ekrem T. 2019. DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. *Science of The Total Environment* 678: 499–524. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.247

Zhokhova E. V., Rodionov A. V., Povydysh M. N., Goncharov M. Yu., Protasova Ya. A., Yakovlev G. P. 2019. Current state and prospects of DNA barcoding and DNA fingerprinting in the analysis of the quality of plant raw materials and plant-derived drugs. *Biology Bulletin Reviews* 9: 301–314. DOI: 10.1134/S2079086419040030