

УДК 582.675.1

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *AQUILEGIA* СЕВЕРНОЙ АЗИИ ПО РАЗЛИЧНЫМ ДНК-МАРКЕРАМ

© 2013 г. А.С. Эрст¹, О.В. Ваулин²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: erst_andrew@yahoo.com;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: oleg.v.vaulin@mail.ru

Поступила в редакцию 17 июля 2013 г. Принята к публикации 12 августа 2013 г.

Результаты молекулярно-генетического исследования нуклеотидной последовательности межгенного участка *rpl32-trnL* и фрагмента генов рРНК ITS1-ITS2 8 видов рода водосбор (*Aquilegia*) из Северной Азии показали генетическую неоднородность популяций *A. borodinii* и *A. jucunda* из разных точек ареала. Молекулярно-генетические данные подтверждают обособленность *A. viridiflora* и *A. atropurpurea* от остальных изученных видов. Оценена степень родства *A. aradanica*, *A. sibirica* и *A. synakensis*. Доказано гибридогенное происхождение вида *A. jucunda*.

Ключевые слова: *Aquilegia*, филогения, виды, популяции, молекулярные маркеры, *rpl32-trnL*, ITS1-ITS2.

ВВЕДЕНИЕ

Род *Aquilegia* L. (водосбор) распространен на территории Евразии, Северной и частично Центральной Америки, представлен 76 видами (Fraser, 1918; Munz, 1946; Камелин, 1973; Nold, 2003) и считается трудным в таксономическом отношении. В настоящее время в Северной Азии известно 17 таксонов (видов, подвидов и межвидовых гибридов) в роде водосбор, статус и ранг которых требует уточнения (Фризен, 1993; Луферов, 1995; Васильева, 1996). Наши данные в значительной степени подтверждают представление о том, что в роде преобладают виды, характеризующиеся высокой степенью эндемизма (Шауло, Эрст, 2010, 2011).

В современных работах представители рода *Aquilegia* часто используются в качестве модельной системы для исследования эволюции растений (Kramer, 2009; Kramer, Hodges,

2010). В последнее время появился ряд работ, направленных на изучение филогении рода по последовательностям внутренних транскрибируемых спейсеров генов рРНК (участок ITS1-ITS2; ядерная ДНК) и участков хлоропластной ДНК (хлДНК) (Ro, McPherson, 1997; Bastida *et al.*, 2010; Fior *et al.*, 2013). Анализ ITS не показал существенных отличий на видовом уровне, так как основные клады в этом анализе имели низкую достоверность. Анализ хлДНК показал хорошую поддержку клад, содержащих все европейские и азиатские виды – *A. glandulosa*, *A. sibirica*, *A. oxysepala* и *A. olympica*. Также было установлено тесное родство североазиатских *A. flabellata*, *A. turczaninowii* и *A. coerulea* из Северной Америки. На основе секвенирования переменных участков ДНК суммарной протяженностью около 24 т.п.н./образец, был проведен филогенетический анализ 61 вида *Aquilegia* (Fior *et al.*, 2013). Результаты указали

на тесное родство североазиатских *A. parviflora*, *A. amurensis* и *A. flabellata* (син. *A. japonica*) со всеми американскими видами и генетическое сходство всех европейских видов. Молекулярные исследования имеют большую ценность для познания филогенетических отношений в роде. Так же необходимо учитывать получение ряда образцов из ботанических садов и частных коллекций (в культуре все виды скрещиваются) и неправильную идентификацию растений в гербарных фондах. Поэтому для изучения необходимо верно идентифицированный материал из природных популяций, часто труднодоступный из-за узкой локализации в пределах горных систем. Кроме того, молекулярные исследования представителей рода часто не учитывают процессов гибридизации при симпатрическом произрастании таксонов.

Данное исследование предпринято для уточнения филогенетических отношений и родственных связей сложных таксономических комплексов *Aquilegia* из Северной Азии, некоторых недавно обнаруженных таксонов (Шауло, Эрст, 2010, 2011).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С помощью модифицированной стандартной методики была выделена ДНК из 25 гербарных образцов *Aquilegia* (табл. 1) (Bender *et al.*, 1983). Все 25 образцов были изучены на изменчивость секвенированием участка ITS1-ITS2 ядерного кластера генов рРНК; для 16 образцов были получены сиквенсы межгенного участка *rpl32-trnL* хлоропластной ДНК.

Для ПЦР участка рДНК ITS1-ITS2 использовали праймеры, подобранные по последовательности *Ranunculus scleratus*, представленной в базе данных ДНК NCBI (№ EF526405): прямой – 5'-aggat-cattg-tcgaa-acctg-3' и обратный – 5'-cttaa-actca-gcggg-taatc-3'. Состав реакционной смеси для ПЦР ITS1-ITS2: 1×PCR-buffer (16 mM (NH₄)₂SO₄, 67 mM трисHCl (pH 8,8 при 25 °C), 0,1 % Tween-20); 4 mM MgCl₂; 0,4 mM каждого dNTP; 1 мкМ каждого праймера и 1 ед. Taq-полимеразы. Температурный режим ПЦР: денатурация при 94 °C – 1 мин; отжиг при 55 °C – 1 мин; полимеризация при 72 °C – 1 мин; в последнем цикле стадия полимеризации продолжалась 5 мин при 72 °C.

Для ПЦР межгенного участка *rpl32-trnL* хлоропластной ДНК использовались праймеры состава: 5'-cagtt-ccaaa-aaaac-gtact-tc-3' (прямой) и 5'-ctgct-tccta-agagc-agcgt-3' (обратный) (Shaw *et al.*, 2007). Состав реакционной смеси и температурный режим ПЦР аналогичны таковым для ПЦР ITS1-ITS2; но температура отжига праймеров – 57 °C.

Секвенирование участков ДНК ITS1-ITS2 и *rpl32-trnL* проводилось с использованием ресурсов ЦКП «Секвенирование ДНК» СО РАН (г. Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>).

Выравнивание полученных последовательностей ДНК производилось с помощью программы ClustalW (Higgins *et al.*, 1996), построение дендрограмм – с использованием пакета MEGA5 (Tamura *et al.*, 2011). Для укоренения дендрограмм использовались последовательности *Paraquilegia microphylla*, представленные в базе данных ДНК NCBI: № JX233771 (участок ITS1-ITS2) и № JX258542 (участок *rpl32-trnL*). Схемы филогенеза строились как по отдельности для участков ITS1-ITS2 и *rpl32-trnL*, так и для объединенных последовательностей. В связи с тем что часть филогенетической информации в обоих изучаемых участках приходится на делеции/инсерции, использовался вариант алгоритма NJ (pairvase deletion), который, в отличие от алгоритмов максимального правдоподобия или максимальной экономии, позволяет учитывать нуклеотидные замены, приходящиеся на участки, делетированные у части особей. В качестве меры достоверности построений использовался бутстреп (1000 итераций). Особенностью последовательности ITS1-ITS2 изучаемых образцов был внутригеномный полиморфизм, выразившийся в наложении пиков при секвенировании (то есть разные копии в геноме содержат последовательности, отличающиеся по нуклеотидным заменам в одной и той же позиции). При построении дендрограмм мы рассмотрели возможность учета и исключения таких позиций из анализа. В связи с повторяемостью паттернов таких наложений у разных образцов мы оцениваем неполные замены как несущие филогенетическую информацию.

Рассчитаны меры двухпараметрического генетического расстояния Кимуры для оценки особенностей дивергенции между образцами (Kimura, 1980).

Таблица 1

Список образцов, использованных в исследовании

Видовая принадлежность	Наименование образца	Место сбора	Коллекционный номер	Коллекторы
<i>A. aradanica</i>	Aq5	Красноярский кр., Араданский хр., 2010	–	Шауло Д., Эрст А., Мякшина Т.
	Aq6	Красноярский кр., Араданский хр., 2010	–	Шауло Д., Эрст А., Мякшина Т.
	Aq7	Красноярский кр., Араданский хр., 2010	–	Шауло Д., Эрст А., Мякшина Т.
<i>A. aradanica</i> × <i>A. sibirica</i>	Aq11	Красноярский кр., Араданский хр., 2010	DS52	Шауло Д., Эрст А.
	Aq12	Красноярский кр., Араданский хр., 2010	DS52a	Шауло Д., Эрст А.
	Aq13	Красноярский кр., Араданский хр., 2011	–	Шауло Д., Эрст А.
<i>A. atropurpurea</i>	Aq22	Респ. Тыва, хр. Сангилен, 2006	–	Эрст А., Белкин Д.
	Aq24	Респ. Тыва, хр. Ондум, 2010	–	Эрст А., Данилов Ю.
<i>A. borodinii</i>	Aq8	Респ. Алтай, Катунский хр., 2007	–	Артемов И.
	Aq9	Респ. Алтай, Катунский хр., 2007	–	Артемов И.
	Aq14	Красноярский кр., Ойский хр., 2010	DS58	Шауло Д., Эрст А.
	Aq16	Респ. Алтай, Катунский хр., 2007	–	Артемов И.
<i>A. glandulosa</i>	Aq1	Красноярский кр., хр. Ергаки	–	Шауло Д., Эрст А.
	Aq4	Красноярский кр., хр. Ергаки	–	Красноярский кр., хр. Ергаки
<i>A. jucunda</i>	Aq18	Респ. Тыва, хр. Акад. Обручева, 2010	DS34	Шауло Д., Эрст А.
	Aq19	Алт. кр., Тигеревский хр, 2004	AS12	Эрст А.
<i>A. sibirica</i>	Aq2	Респ. Хакасия, хр. Борус, 2010	–	Эрст А., Данилов Ю.
	Aq3	Респ. Хакасия, хр. Борус, 2010	–	Эрст А., Данилов Ю.
	Aq15	Респ. Тыва, хр. Акад. Обручева, 2010	–	Шауло Д., Эрст А.
<i>A. synakensis</i>	Aq10	Респ. Тыва, хр. Акад. Обручева, 2010	DS43	Шауло Д., Эрст А.
	Aq17	Респ. Тыва, хр. Акад. Обручева, 2010	DS43a	Шауло Д., Эрст А.
<i>A. viridiflora</i>	Aq20	Читинская обл., Даурский заповедник, 2004	–	Хан И.
	Aq21	Читинская обл., Даурский заповедник, 2004	–	Хан И.
	Aq26	Читинская обл., хр. Адун-Чалон, 2004	–	Ковтонюк Н.
	Aq27	Читинская обл., хр. Адун-Чалон, 2004	–	Ковтонюк Н.

Примечание. Виды (расположены в алфавитном порядке), коллектор, коллекционный номер (если он имеется), все образцы хранятся в гербарии ЦСБС СО РАН (NS).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длина фрагмента ДНК, полученного при секвенировании участка ITS1-ITS2, составила 594–595 п.н. Длина изученного участка *rpl32-trnL* варьировала из-за вставок/делеций нуклеотидов в пределах 293–339 п.н. Малая длина изученного

участка *rpl32-trnL* связана с его обогащенностью протяженными блоками из одинаковых нуклеотидов, затрудняющей прочтение последовательности. Значения мер генетического расстояния Кимуры приведены в табл. 2.

Полученные данные указывают на то, что максимальные генетические расстояния в изу-

Таблица 2

Основные значения мер генетического расстояния Кимуры

Участок ДНК	Средние расстояния среди <i>Aquilegia</i>	Средние расстояния между <i>Aquilegia</i> и <i>Paraquilegia microphylla</i>	Максимальные расстояния в парах видов <i>Aquilegia</i> (названия образцов приведены в скобках)
ITS1-ITS2	0,008	0,069	0,019 (Aq24 <i>A. atropurpurea</i> – Aq8 <i>A. borodinii</i>)
<i>rpl32-trnL</i>	0,005	0,113	0,022 (Aq14 <i>A. borodinii</i> – Aq15 <i>A. sibirica</i>)
ITS1-ITS2 + <i>rpl32-trnL</i>	0,007	0,084	0,014 (Aq20 <i>A. viridiflora</i> – Aq14 <i>A. borodinii</i>)

ченной группе *Aquilegia* по разным последовательностям отличаются от средних расстояний между этой группой и *P. microphylla* в 3–6 раз, что может быть использовано как оценка соотношения времен расхождения родов *Paraquilegia* и *Aquilegia* и изученных видов рода *Aquilegia*. Соотношение между длиной изученного участка *rpl32-trnL* и средним расстоянием по этому участку ДНК для изученных видов *Aquilegia* таково, что образцы различаются единичными нуклеотидными заменами. Насыщенность вставками/делециями нуклеотидов затрудняет выравнивание участков *rpl32-trnL* *P. microphylla* и изученных нами образцов. Несколько большая насыщенность заменами участка ITS1-ITS2 среди изученных образцов рода *Aquilegia* и отсутствие мононуклеотидных повторов делают эту последовательность более удобной для филогенетических исследований, чем участок *rpl32-trnL*. При этом определенную сложность для анализа представляют позиции, по которым выявлен внутригеномный полиморфизм.

Дендрограммы, построенные по участкам ITS1-ITS2, *rpl32-trnL* и объединенным последовательностям приведены на рис. 1–3 соответственно. Полного соответствия между разделением образцов на кластеры и виды на дендрограммах не наблюдается, хотя такая тенденция и прослеживается. В частности, на всех дендрограммах образец Aq14 вида *A. borodinii* кластеризуется отдельно от образцов Aq8 и Aq9 того же вида. Образцы вида *A. aradanica* образуют единый кластер на дендрограммах, построенных по ITS1-ITS2 и по объединенным данным, однако по хлоропластной ДНК они группируются с образцом *A. glandulosa* Aq4. При исключении из анализа мононуклеотидных

повторов по участку *rpl32-trnL* образец Aq4 идентичен двум образцам *A. aradanica*. В целом дерево, построенное по объединенным последовательностям, в большей степени сходно с таковым, построенным по ядерному участку ITS1-ITS2. Это объясняется малой изменчивостью участка *rpl32-trnL*, которая в наибольшей степени связана с вариацией по числу мономеров в мононуклеотидных повторах.

Изученные образцы относятся к двум секциям, морфологически различающимся по строению цветка. Первая группа видов, входящих в секцию *Viridiflorae* Fiesen, характеризуется мелкими – желтыми, желто-зелеными или пурпурными цветками с отличной от остальных видов морфологией (тонкие, прямые и расходящиеся шпорцы, чашелистики короче отгиба лепестков и тычиночные нити намного длиннее отгиба лепестков) (Pallas, 1779; Willdenow, 1809; Фризен, 1989). Вторая группа объединяет в себя таксоны с цветками крупных и средних размеров, фиолетовой, синей или сине-белой окраски, как правило, со вздутыми, крючковидно-закрученными шпорцами, чашелистиками длиннее или равными отгибу лепестков, тычинками короче или равными отгибу лепестков. Эти виды относятся к секциям *Glandulosae* I.M. Vassiljeva и *Aquilegia* (Васильева, 1996).

Виды секции *Viridiflorae*, вошедшие в первую кладу, имеют очаги распространения в степных и лесостепных районах Южной и Восточной Сибири, Дальнего Востока, Монголии, Китая и Японии. В разное время были описаны близкородственные зеленоцветковому водосбору виды: *A. viridiflora* Pall., *A. atropurpurea* Willd., *A. buriatika* Peschkova, *A. tuvunica* I.M. Vassiljeva (Pallas, 1779; Willdenow, 1809; Пешкова, 1977;

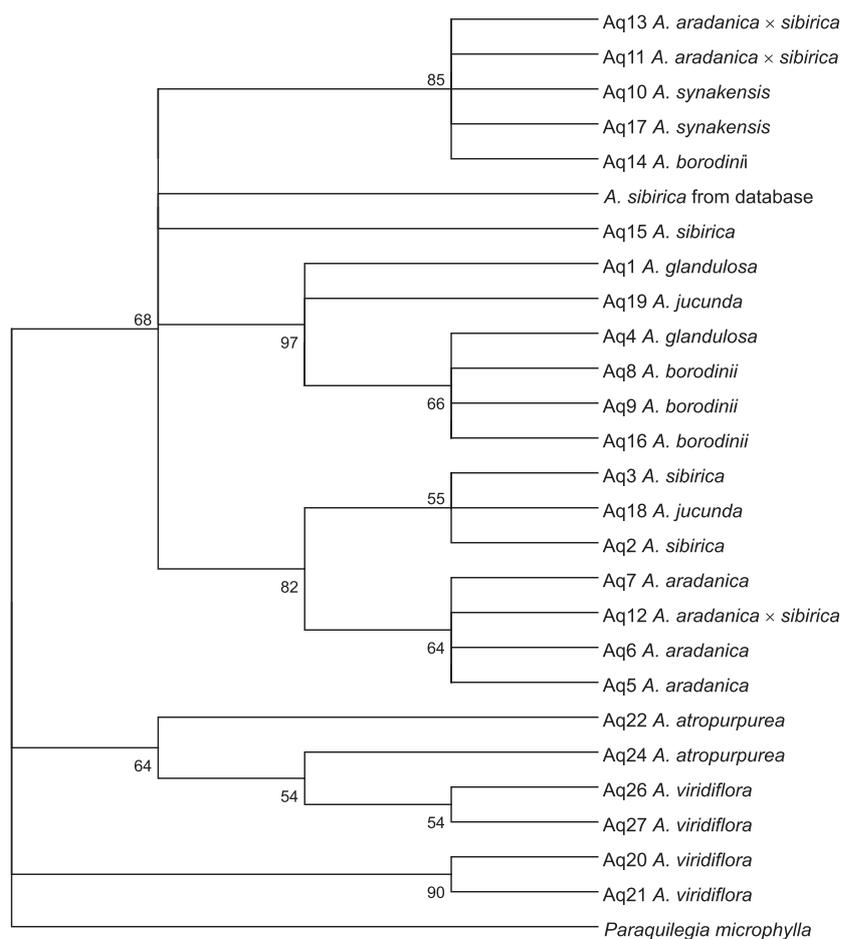


Рис 1. Топология филогенетического дерева, построенного по алгоритму NJ по участку ДНК ITS1-ITS2. Укоренено на последовательность *Paraquilegia microphylla*, представленную в базе данных ДНК под № JX233771. Для построения дендрограммы использовался также образец *Aquilegia sibirica* (номер в базе данных ДНК – EU747259). Указаны обозначения и видовая принадлежность образцов. Бутстреп-оценки менее 50 % не отображены.

Васильева, 1992). Обнародованные таксоны имеют отличия по окраске цветка (зеленый/коричневый), опушению (имеется/отсутствует), характеру поверхности растения (с сизым восковым слоем, зеленое без выраженного воскового слоя кутикулы). Таксономический статус и синонимика этих представителей водосбора требует уточнения: в одних случаях описание не соответствует типовым образцам – на типовых образцах присутствуют растения с различными морфологическими характеристиками, в других случаях описания составлены по изменчивым признакам, которые широко вариабельны в пределах узких экотопов. Самым главным отличием при разграничении таксонов является окраска цветка (желтая и коричневая) и опушение (голые и опушенные) образцов из

различных точек ареала. Как видно на рис. 1, образцы **Aq20 и Aq21 из Читинской области** образуют отдельную группу и характеризуются сильным опушением и желтыми цветками. Мы относим эти виды к *A. viridiflora*. Другие образцы из Тувы (**Aq22 и Aq24**) характеризуются коричневыми или желто-коричневыми цветками, наличием или отсутствием опушения, они более полиморфны и относятся, по нашему мнению, к *A. atropurpurea* (рис. 4). Оба вида географически обособлены: *A. viridiflora* распространена в Забайкалье и Дальнем Востоке, а *A. atropurpurea* – в Туве, Китае и Монголии. Различия могут быть связаны с экологическими условиями. При этом два образца *A. viridiflora* (**Aq26 и Aq27**) кластеризуются в одну ветвь с *A. atropurpurea*. Анализ последовательностей

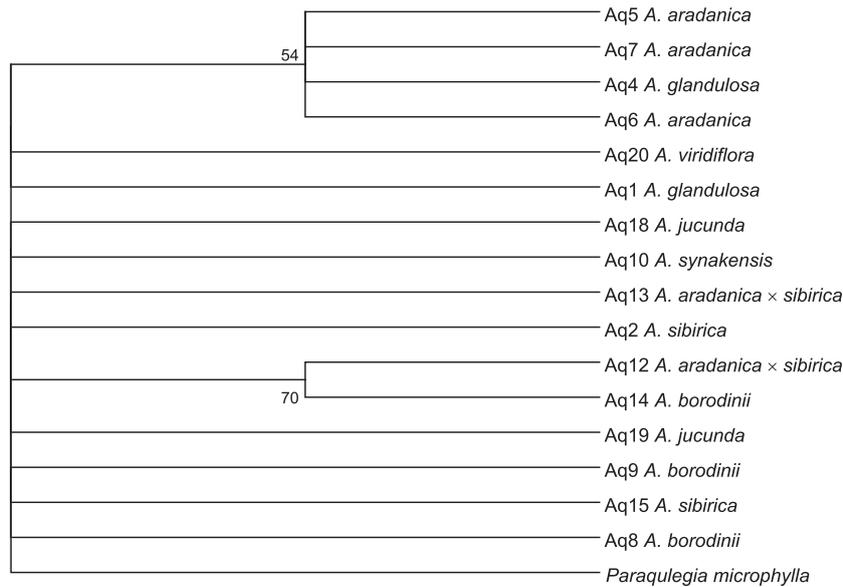


Рис 2. Филогенетическое дерево построено по алгоритму NJ по последовательности участка хлоропластной ДНК *rpl32-trnL*. Укоренено на последовательность *Paraquilegia microphylla*, представленную в базе данных ДНК под № JX258542. Указаны обозначения и видовая принадлежность образцов. Бутстреп-оценки менее 50 % не отображены.

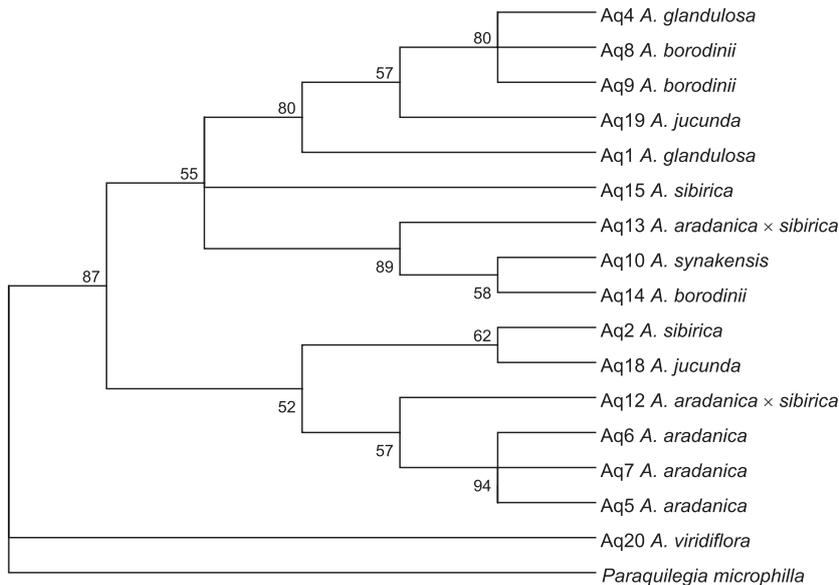


Рис 3. Филогенетическое дерево построено по алгоритму NJ по объединенной последовательности ITS1-ITS2 и *rpl32-trnL* при 1000 итераций бутстрепа. Укоренено на последовательности *Paraquilegia microphylla*, представленные в базе данных ДНК под № JX233771 (участок ITS1-ITS2) и № JX258542 (участок *rpl32-trnL*). Указаны обозначения и видовая принадлежность образцов. Бутстреп-оценки менее 50 % не отображены.

так же показал, что кластеризация образцов в паре видов *A. viridiflora* и *A. atropurpurea* неоднозначна. Таким образом, эти два вида могут быть надежно разделены по морфологическим признакам, но на уровне изменчивости ДНК

ITS1-ITS2 они очень близки. Отметим, что относительно большая обособленность образцов секции *Viridiflorae* подтверждается значениями мер генетических расстояний (табл. 2). Образцы этой подсекции наиболее удалены



Рис. 4. Цветки *A. viridiflora* (а) и *A. atropurpurea* (б).

от остальных по последовательностям ITS1-ITS2 и объединенным данным. Наибольшая дивергенция по мере генетического расстояния Кимуры по участку *rpl32-trnL* отмечается для образцов секций *Glandulosae* I.M.Vassiljeva и *Aquilegia*. Однако по количеству эволюционных событий (включая делеции/инсерции, но исключая расхождение по мононуклеотидным повторам) наиболее удаленным оказывается образец Aq20 *A. viridiflora* секции *Viridiflorae* (данные не приводятся).

Следующей сложной группой является комплекс видов, которые различаются на секционном уровне – *A. sibirica* и *A. glandulosa* (рис. 5, а, б). По мнению ряда авторов, водосборы в природных популяциях образуют гибриды, которые встречаются при симпатрическом сосуществовании таксонов (Prazmo, 1965; Taylor, 1967;

Губанов, Камелин, 1991). И.А. Губанов и Р.В. Камелин поддерживают данную гипотезу и в своей публикации, касающейся описания новых таксонов из Монголии, приводят *A. × gubanovii* как гибрид *A. sibirica* и *A. glandulosa*, к сожалению, без латинского диагноза (т. е. не было сделано формального описания). Наши образцы из Алтайского края географически обособлены от *A. × gubanovii* Р. Кам. и могут иметь генетические отличия. Поэтому в нашей публикации мы применяем обозначение *A. jucunda* Fisch. & C.A. Mey. ex Ledeb., относящееся к территории Казахстана и Алтайского края (рис. 5, в). Этот таксон характеризуется диморфными цветовыми характеристиками цветка, а также промежуточными признаками между предполагаемыми родительскими видами. Изучение типовых образцов *A. jucunda*



Рис. 5. Цветки *A. sibirica* (а), *A. glandulosa* (б) и *A. jucunda* (в).

и образцов со сходными характеристиками из Республик Алтай, Тува, Казахстан; Китая и Монголии показало, что в различных частях ареала образцы отличаются по морфологии вегетативных и генеративных структур и могут быть разными видами; по типу американских представителей группы *A. chrisantha* (Munz, 1946). Как видно на рис. 1, различные образцы *A. jucunda* (Aq18 и Aq19) входят в разные клады. Aq18 образует единую ветвь с двумя образцами *A. sibirica*, а Aq19 – с *A. glandulosa* и частью образцов *A. borodinii*. Аналогичная кластеризация сохраняется и на дереве, полученном по объединенным последовательностям ITS1-ITS2 и *rpl32-trnL* (рис. 3). Это может свидетельствовать о гибридном происхождении обсуждаемого таксона, но для окончательного решения данного вопроса необходимо привлечение комплексных подходов. Так как используемые морфологические критерии довольно надежны и экологических различий между *A. jucunda* из разных частей ареала не выявлено, то нет причин считать эти относительно генетически удаленные образцы (Aq18 и Aq19) разными видами. Еще одной трудной для понимания филогении является группа *A. borodinii*. Согласно И. Васильевой (1992), *A. borodinii* (рис. 6, а) является эндемиком Ангаро-Саянского выдела Восточной Сибири и Республики Алтай (Чуйские белки). *A. borodinii* имеет естественные местообитания в пределах Республик Алтай и Хакассия, Красноярского края, Тувы и южной Бурятии (Фризен, 1993). Анализ гербарных материалов показал, что образцы из Республики Алтай не соответствуют типовым материалам. На рис. 1 и 3 наглядно

видно, что образцы Aq8, Aq9 и Aq16 из Республики Алтай входят в одну кладу с *A. glandulosa* и могут быть выделены в качестве гибридного таксона *A. katunika* nothosp. nov. (Shaulo, Erst, 2013. In press). Катунский водосбор имеет некоторое сходство с *A. borodinii*, но родственен *A. jucunda*. Согласно нашим представлениям, *A. borodinii* также является стабильным гибридным таксоном, в образовании которого принимали участие предковые виды из групп *A. viridiflora* и *A. glandulosa*. Это подтверждается молекулярными данными (Bastida et al., 2010) и морфологическими критериями (характеристики шпорцев). В дальнейшем этот таксономический комплекс требует более детального рассмотрения с привлечением материалов по близкородственным видам.

В отношении недавно описанных *A. aradanica* Shaulo et A. Erst (рис. 6, в) и *A. synakensis* Shaulo et A. Erst (рис. 6, б) можно сказать следующее: образцы первого вида (Aq5, Aq6 и Aq7) занимают обособленную позицию на филогенетическом дереве и видовая самостоятельность таксона не вызывает сомнения (рис. 1, 3). Помимо этого, в кладу входит образец, имеющий, кроме базовых, признаки *A. sibirica*. Этот образец (Aq12) можно выделить в качестве гибридного таксона *A. sibiridana* nothosp. nov. (Shaulo, Erst, 2013. In press). Экземпляры с промежуточными признаками между *A. aradanica* и *A. borodinii* (Aq11 и Aq13) входят в одну кладу с *A. synakensis* и *A. borodinii*. Очевидно, оба последних вида участвовали в образовании этих гибридов.

Таким образом, среди таксонов рода *Aquilegia* Северной Азии есть стабильные, генотипически обособленные виды. Имеются также виды древ-



Рис. 6. Цветки *A. borodinii* (а), *A. synakensis* (б) и *A. aradanica* (в).

него гибридогенного происхождения и спонтанные гибриды с признаками, уклоняющимися в сторону родительских таксонов. Для более четкого понимания филогенетических взаимоотношений внутри рода необходимы дополнительные комплексные (молекулярно-генетические, морфологические и экологические) исследования, охватывающие все группы рода.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 12-04-31209 мол_а, 13-04-90848 мол-рф-нр 13-04-00874а и 12-04-01319а).

ЛИТЕРАТУРА

- Васильева И.М. *Aquilegia tuvinica* Vassil. // Ботан. журнал. 1992. Т. 77. № 9. С. 67.
- Васильева И.М. Система рода *Aquilegia* L. (Ranunculaceae) Флоры России и сопредельных государств // Новости систематики высших растений. 1996. Т. 30. С. 8–29.
- Губанов И.А. Камелин Р.В. *Aquilegia gubanovii* R. Kam. // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1991. Т. 96. Вып. 6. С. 114.
- Камелин Р.В. Флорогенетический анализ естественной флоры горной Средней Азии. Л.: Наука, 1973. С. 301–305.
- Луферов А.Н. *Aquilegia* L. // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. 1995. Т. 7. С. 26–32.
- Пешкова Г.А. *Aquilegia buriatica* Peschkova // Новости систематики высших растений. Л., 1977. Т. 14. С. 236.
- Фризен Н.В. *Aquilegia* L. // Флора Сибири. Новосибирск: Наука, 1993. Т. 6. С. 112–116.
- Фризен Н.В. Ультраскульптура поверхности семян и систематика сибирских представителей рода *Aquilegia* L. (Ranunculaceae) // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1989. Т. 94. № 6. С. 76–78.
- Шауло Д.Н., Эрст А.С. Новый вид рода Водосбор (*Aquilegia* L., Ranunculaceae) из Тувы // Turczaninowia. 2010. Т. 13. № 3. С. 43–45.
- Шауло Д.Н., Эрст А.С. Новый вид *Aquilegia* (Ranunculaceae) из Западного Саяна, Северная Азия // Turczaninowia. 2011. Т. 14. № 3. С. 28–34.
- Bastida J., Alcantara J., Rey P. *et al.* Extended phylogeny of *Aquilegia*: the biogeographical and ecological patterns of two simultaneous but contrasting radiations // Plant Syst. Evol. 2010. V. 284. P. 171–185.
- Bender W., Spierer P., Hognes D.S., Chambon P. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of *bithorax* loci in *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol. 1983. V. 168. No 1. P. 17–33.
- Fior S., Li M., Oxelman B. *et al.* Spatiotemporal reconstruction of the *Aquilegia* rapid radiation through next-generation sequencing of rapidly evolving cpDNA regions // New Phytol. 2013. V. 198. No 2. P. 579–592.
- Fraser A.C. Studies on the Genus *Aquilegia*. N.Y., 1918. 98 p.
- Higgins D.G., Thompson J.D., Gibson T.J. Using CLUSTAL for multiple sequence alignments // Methods Enzymol. 1996. V. 266. P. 383–402.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // J. Mol. Evol. 1980. V. 16. P. 111–120.
- Kramer E.M. *Aquilegia*: a new model for plant development, ecology, and evolution // Annu. Rev. Plant Biol. 2009. V. 60. P. 261–277.
- Kramer E.M., Hodges S.A. *Aquilegia* as a model system for the evolution and ecology of petals // Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B. 2010. V. 365. P. 477–490.
- Munz P.A. *Aquilegia*: The cultivated and wild columbines // Gentes Herb. 1946. V. 7. P. 1–150.
- Nold R. Columbines: *Aquilegia*, *Paraquilegia* and *Semiaquilegia*. Portland, Timber Press, 2003. 192 p.
- Pallas P. *Aquilegia viridiflora* Pall. // Acta Acad. Scientiarum Imperialis Petropolitanae. 1779. V. 2. P. 260. pl. 11, f. 1.
- Prazmo W. Cytogenetic studies on the genus *Aquilegia*. III. Inheritance of the traits distinguishing different complexes in the genus // Acta Soc. Bot. 1965. V. 34. P. 403–437.
- Ro K.-E., McPherson B. Molecular phylogeny of the *Aquilegia* group (Ranunculaceae) based on internal transcribed spacers and 5.8S nuclear ribosomal DNA // Biochem. Syst. Ecol. 1997. V. 25. P. 445–461.
- Shaulo D., Erst A. New taxa and taxonomic combination of the genus *Aquilegia* from Asia // Phytokeys. 2013. In press.
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: the tortoise and the hare III // Amer. J. Bot. 2007. V. 94. No. 3. P. 275–288.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. *et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. No. 10. P. 2731–2739.
- Taylor R.J. Interspecific hybridization and its evolutionary significance in the genus *Aquilegia* // Brittonia. 1967. V. 19. P. 374–390.
- Willdenow C. *Aquilegia atropurpurea* Willd. // Enumeratio Plantarum Horti Botanici Berolinensis. 1809. P. 577.

**PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS
AMONG SEVERAL NORTH-ASIAN SPECIES OF THE GENUS *AQUILEGIA*
ACCORDING TO VARIOUS MOLECULAR MARKERS**

A.S. Erst¹, O.V. Vaulin²

¹ Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: erst_andrew@yahoo.com;

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail:
oleg.v.vaulin@mail.ru

Summary

Molecular study of the nucleotide sequence of the *rpl32-trnL* spacer and the ITS1-ITS2 fragment of rRNA genes in eight species of the genus *Aquilegia* sampled in Northern Asia has shown that populations of *A. borodinii* and *A. jucunda* from various localities are genetically diverse. The results confirm that *A. viridiflora* and *A. atropurpurea* are genetically distant from other species studied. The relationship degrees among *A. aradanica*, *A. sibirica*, and *A. synakensis* have been determined. The hybrid origin of *A. jucunda* is proven.

Key words: *Aquilegia*, phylogeny, species, populations, molecular markers, *rpl32-trnL*, ITS1-ITS2.