

## МОЛЕКУЛЯРНО-ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ РАРИТЕТНИХ ВИДІВ ТРИБИ *SILENEAE* ФЛОРИ УКРАЇНИ

В. О. МАРТИНЮК, аспірант

Н. І. КАРПЕНКО, кандидат біологічних наук

І. Ю. КОСТІКОВ, доктор біологічних наук, професор

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*E-mail: vikamartynuk@ukr.net*

**Анотація.** У флорі України налічується 59 видів триби *Sileneae* DC. (*Caryophyllaceae*), сім з яких занесено до Червоної книги України (2009). Проте більшість цих раритетних таксонів на генетичному рівні раніше не досліджувалися. Мета нашої роботи полягала у виявленні філогенетичних зв'язків раритетних видів триби. Молекулярно-філогенетичну реконструкцію проводили для послідовностей ITS1-5,8S-ITS2 із застосуванням Байєсівського підходу. На отриманому дереві таксони згрупувалися в п'ять клад: *Atocion*, *Viscaria*, *Heliosperma*, *Lychnis* та *Silene* з 4 субкладами. До кладу *Atocion* входять два ендемічні види – *Atocion lithuanicum* (Zarad.) Tzvel. та *A. huanicum* (Klok.) Tzvel. Решта раритетних таксонів входять до різних субклад *Silene*. *S. zawadzki*

*Herbich*, який інколи наводять в межах роду *Elisanthe* (Fenzl) Fenzl чи *Silenanthe* (Fenzl) Griseb. & Schenk, належить до другої субклади роду *Silene* L.; сестринським до нього є *S. viscosa* Pers. *S. syreistschikowii* P. Smirn. розміщується в межах четвертої субклади та є сестринським до *S. supina* M. Bieb., який, за літературними даними, є до нього близьким. *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova також формує одну кладу з близьким до нього *S. frivaldszkyana* Hampe. *S. viridiflora* L. є сестринським видом до *S. nutans* L. Ендем *S. cretacea* Fisch. ex Spreng. виявився близьким до представників секції *Otites* (Adans.) Oth, проте з невисокою підтримкою.

**Ключові слова:**  
*Caryophyllaceae*, *Silene*, *Atocion*, ITS, метод Байєса

**Вступ.** У світі налічується близько 700 видів триби *Sileneae* DC. (*Caryophyllaceae*, *Magnoliopsida*), що розповсюджені переважно в Північній півкулі [19, 23]. Смілкові відрізняються від представників інших триб родини зрослолистою чашечкою

з комісуральними жилками, почерговим згортанням пелюстки у квітковій бруньці, наявністю 3-5 плодолистиків (і, відповідно, стилодіїв) та багатонасінною коробочкою [2, 12].

Система триби є досить

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. суперечливою, оскільки об'єм родів цієї групи викликає багато дискусій. В першу чергу це стосується *Silene* L., в який різні автори включають (або навпаки з нього виокремлюють) цілу низку родів (*Orites* Adans., *Pleconax* Raf., *Oberna* Adans., *Elisanthe* (Fenzl) Fenzl, *Melandrium* Röhl., *Atocion* Adans. та ін.).

У флорі України налічується 59 видів триби *Sileneae* [8]. Сім видів занесено до Червоної книги України: *Silene hypanica* Klok. (= *Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel.), *S. lithuanica* Zapał. (= *A. lithuanicum* (Zapał.) Tzvel.), *S. cretacea* Fisch. ex Spreng., *S. jailensis* N.I. Rubtzov, *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protoporova, *S. viridiflora* L. та *Silenanthe zawadzki* (Herbich) Griseb. et Schenk (= *Silene zawadzki* Herbich) [11]. Ще один вид – *Silene syreistschikowii* P. Smirn. – був занесений до попереднього видання Червоної книги [10], проте до останнього видання не був включений, очевидно, у зв'язку з його спірним видовим статусом. Для більшості цих видів послідовності ITS1-5.8S-ITS2 в GenBank не представлені, і їх розміщення на філогенетичному дереві триби потребує уточнення.

Отже, мета нашого дослідження полягала у встановленні філогенетичних взаємозв'язків між раритетними таксонами триби *Sileneae* флори України, близькими до них видами та іншими представниками цієї групи.

**Матеріали та методи.** Для виділення тотальної ДНК використовували фрагменти листкових пластинок (власних зборів, гербарних зразків та рослин, вирощених *ex situ* з насіння) представників триби *Sileneae* (в дужках подано код доступу в GenBank):

***Lychnis chalconica* L.:** Рівненська обл., Гощанський р-н, с. Тучин, культивар на присадибній ділянці (MH307957); ***L. flos-cuculi* L.:** Рівненська обл., Гощанський р-н, с. Тучин, пасовищні луки (MH299878); ***Silene baccifera* (L.) Roth:** Рівненська обл., Гощанський р-н, с. Тучин, схил біля лук (MH312029); ***S. chlorantha* (Willd.) Ehrh.:** Черкаська обл., Корсунь-Шевченківський р-н, Різаний яр, Leg., Det.: Тищенко О.В. (MH333071); ***S. cretacea:*** Харківська обл., НПП «Дворічанський», Leg., Det.: Тупіков А. (MH340547); ***S. frivaldszkyana* Hampe:** проростки, отримані з насіння Ботанічного саду Віденського університету (MH320790); ***S. frivaldszkyana:*** проростки, отримані з насіння Ботанічного саду Латвійського університету (MH333087); ***S. sytnikii:*** KW080657, Миколаївська обл., Новобузький р-н, окол. с. Софіївка, гранітні відслонення. 03.07.2004. Leg.: Воронова С.М., Щербакова О.Ф., Det.: Воронова С.М. (MH329676); ***S. syreistschikowii:*** YALT, Крим, окол. Опукського природного заповідника. 08.08.2009. Leg.: Едигарян А.А.,

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. Квітницька А.А., Корженевський В.В., Абраменков А.А., Det.: Корженевський В.В. (МН341924); *S. supina* M. Bieb.: Харківська обл., Дворічанський р-н, окол. с. Западне, крейдяні схили (МН333090); *S. vulgaris* (Moench) Garcke: м. Київ, Голосіївський район, біля паркану економічного факультету КНУ імені Тараса Шевченка (МН333099); *S. zawadzki*: Ботанічний сад Чернівецького національного університету – насіння з г. Великий Камінь, Путильського району Чернівецької обл. (МН333104).

Виділення тотальної ДНК проведено модифікованим СТАВ-методом [5]. Ампліфікацію проводили за White зі співавт. [29] з використанням наступних пар праймерів: ITS1-ITS4, ITS5-ITS4 та ITS6-ITS9. Секвенування здійснювали на комерційній основі в компанії MacroGen (<http://www.MacroGen.com>).

Для молекулярно-філогенетичного аналізу були використані не лише отримані нами сиквенси, а й імпортовані з GenBank. Відбір послідовностей проводився таким чином, щоб максимально репрезентувати представників триби Sileneae, що зростають на території України. Зокрема, з Genbank для аналізу імпортовано наступні послідовності: *Agrostemma githago* L. JN589107, *Atocion armeria* (L.) Raf. KY989963, *A. compactum* (Fisch. ex Hornem.) Tzvel. KM975935, *A. huranicum* KJ616753, *A. lithuanicum*

KY989962, *Heliosperma albanicum* K. Malý EF118089, *H. alpestre* (Jacq.) Griseb. EF118056, *H. carpaticum* (Zapał.) Klok. JX274526, *H. pusillum* (Waldst. & Kit.) Rchb. EF118106, *Lychnis flos-cuculi* L. KJ918497, *Silene baccifera* JF978558, *S. borysthena* (Gruner) Walters KF274507, *S. cappadocica* Boiss. & Heldr. KX757457, *S. conica* L. FN821100, *S. conoidea* L. FN821101, *S. dichotoma* Ehrh. KX757313, *S. dioica* (L.) Clairv. FN821109, *S. eriocalycina* Boiss. KX757432, *S. gallica* L. MF063500, *S. italica* (L.) Pers. KX449847, *S. latifolia* Poir. KX757331, *S. multiflora* Pers. KF274511, *S. nemoralis* Waldst. & Kit. KX449914, *S. noctiflora* L. FN821141, *S. nutans* L. DQ059409, *S. otites* Sm. EF060233, *S. pendula* L. FN821142, *S. sibirica* Schrank JX274521, *S. subconica* Friv. HQ334913, *S. tatarica* Pers. KP849855, *S. viscosa* Pers. FN821148, *S. viridiflora* JX403431 та DQ059414, *S. vulgaris* KJ918498, *S. wolgensis* Otth KF274506, *S. zawadzki* KX757363 та KX757364, *Viscaria alpina* (L.) G. Don FJ384050, *V. vulgaris* Bernh. FJ384058.

Вирівнювання послідовностей проводили з використанням алгоритму ClustalW [28]. Реконструкцію філогенетичного дерева на основі Байєсівського підходу проводили в програмі MrBayes 3.2 [27]; кількість генерацій становила 150000. Сиквенс *Agrostemma githago* L. JN589107 використали як аутгрупу.

**Результати.** Нами було отримано

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. 12 нуклеотидних послідовностей ITS1-5,8S-ITS2 для 11 таксонів та проведено їх анотацію.

Вирівняна вибірка для філогенетичного аналізу (51 сиквенс) мала довжину 600 п.н. і містила 210 (35%) варіабельних сайтів.

На отриманому нами філогенетичному дереві представників триби Sileneae (рис. 1) більшість клад мають досить високі значення апостеріорної ймовірності (0,9-1). На дереві виокремлюються 5 макроклад: *Atocion*, *Viscaria*, *Heliosperma*, *Lychnis* та *Silene*.

Клада «*Atocion*» характеризується високим значенням апостеріорної ймовірності і є монофілетичною. Раритетними видами цієї класи є *A. hypanicum* (вужьколокальний ендемік гранітно-степового Побужжя) та *A. lithuanicum* (ендем Полісся).

Клада «*Viscaria*» включає види роду *Viscaria* Bernh. (= *Steris* Adans.), є сестринською до *Atocion* і характеризується високим значенням апостеріорної ймовірності – 0,97. З видів флори України в цій класі представлена *V. vulgaris*.

Клада «*Heliosperma*» має високу статистичну підтримку (0,99) і є сестринською до *Atocion* та *Viscaria*. Ендем Східних Карпат *H. carpaticum* є сестринським до *H. alpestre*, що зростає в Східних Альпах.

Ще однією кладою з високою підтримкою є клас «*Lychnis*». Обидва представлені на реконструкції види

зростають на території України: *L. flos-cuculi* та *L. chalconica*.

Клада «*Silene*» має дещо нижчу підтримку (0,89), до неї входять представники роду *Silene* s.l. Субклада «*Silene 1*» має низьке значення апостеріорної ймовірності (0,5) та включає види, що належать до секцій *Melandrium* (Röhl.) Rabeler (*S. latifolia* та *S. dioica*) та *Conoimorpha* Otth, (*S. subconica*, *S. conica*, *S. conoidea*). Сестринською до них виступає *S. noctiflora*, яку часто виокремлюють в самостійний рід *Elisanthe*. До другої гілки цієї ж субклади входить *S. dichotoma*, *S. vulgaris* та *S. pendula*. Невелика субклада «*Silene 2*» (значення апостеріорної ймовірності – 1) включає *S. viscosa* та сестринський до нього карпатський ендем *S. zawadzki*. Окремою гілкою («*Silene 3*») з високою підтримкою в класі є *S. baccifera* (= *Cucubalus baccifer*).

Решта таксонів з високим значенням апостеріорної ймовірності утворюють субкладу «*Silene 4*». Чітко відокремленою від решти є мікроклада, що включає *S. syreistschikowii* (ендем Східного Криму), *S. supina*, *S. cappadocica* та *S. eriocalycina*. Представники флори України – *S. italica*, *S. nemoralis*, *S. nutans* та *S. viridiflora* – також утворюють мікрокладу з високою статистичною підтримкою (0,98). Південнобузький ендем *S. sytnikii* та обидва сиквенси *S. frivaldszkyana* об'єднуються в єдину класу (апостеріорна ймовірність становить

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. 1). *S. chlorantha* є сестринським таксоном до *S. tatarica*. Рідкісний вид *S. cretacea* є сестринським до групи видів *Silene* sect. *Otites* (Adans.) Otth (*S. otites*, *S. borysthenica* та *S. wolgensis*), щоправда з невисокою підтримкою (0,67).

**Обговорення.** Отримана нами загальна топологія філогенетичних взаємовідносин представників *Sileneae* узгоджується з опублікованими раніше реконструкціями [15, 21, 22]. *Agrostemma* L. є сестринською гілкою до всіх інших представників триби [3, 21, 22], нами він був обраний як аутгрупа. Цей рід налічує лише 1-3 види, в Україні поширений лише один з них – *A. githago* – як бур'ян зернових культур [1, 2, 9, 23].

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю.

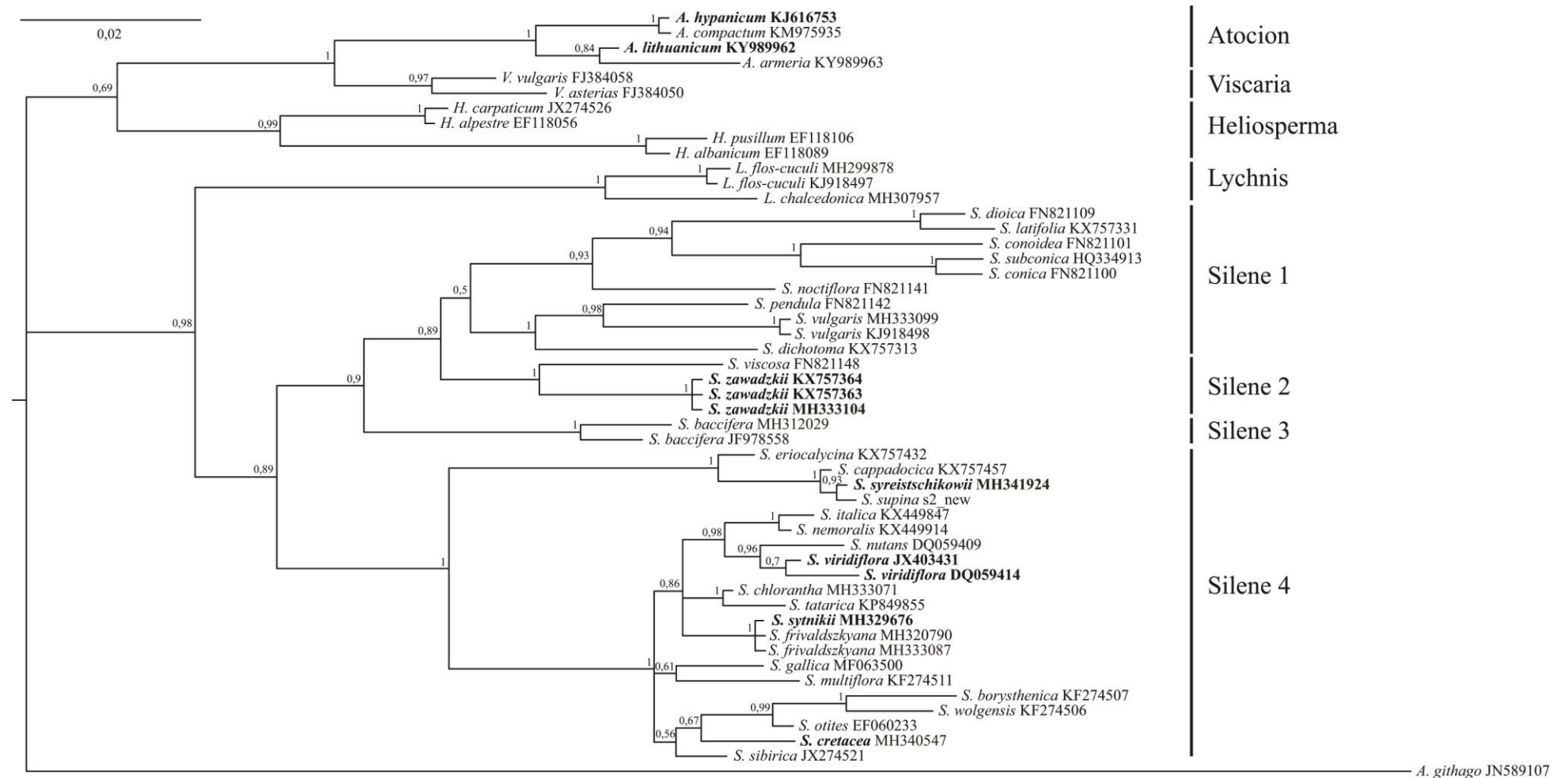


Рис. 1. Філогенетична реконструкція послідовностей ITS1-5,8S-ITS2 представників триби Sileneae, побудована з застосуванням Байєсівського підходу. Цифрові позначення над гілками – апостеріорна ймовірність. Після назви кожного таксону наводиться код доступу GenBank

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю.

Роди *Atocion* та *Viscaria* є сестринськими кладами, що підтверджується як нашими дослідженнями, так і численними опублікованими раніше філогенетичними деревами ядерних (ITS, RPD2a, RPD2b) та хлоропластних (інтрон гену *rps16*, спейсер *psbE-petG*) послідовностей [3, 18, 21, 24].

Ендем Гранітно-Степового Побужжя *A. huranicum* виявився сестринським до близького за літературними даними *A. compactum*, що поширений на Балканах, в Малій Азії, на Кавказі та Близькому Сході [13, 14, 19]. Ще один ендемічний вид цього роду – *A. lithuanicum* – є сестринським до *A. armeria*. Останній представлений у флорі України як культивар, хоча інколи дичавіє; природний ареал цього виду – Центральна та Південна Європа [6, 13].

Рід *Viscaria* (= *Steris*) у світовій флорі представлений трьома видами [18, 23], в Україні поширений лише один – *V. vulgaris*, що зростає по всій її території на узліссях, галявинах, луках та трав'янистих схилах [1, 2, 4].

За нашими реконструкціями представники роду *Heliosperma* (Rchb.) Rchb. є сестринськими до *Atocion* та *Viscaria*. Але дані філогенетичного аналізу ядерних (ITS, RPD2a, RPD2b, RPA2, RPB2) та хлоропластних (*psbE-petG*, інтрон *rps16*) послідовностей [16, 17] поки що не дозволяють остаточно знайти

місце цього роду в системі Sileneae. Ймовірно, *Heliosperma* є гібридогенним таксоном, причому вважається, що предковими формами могли бути, з одного боку, предок *Atocion* та *Viscaria*, а з іншого – *Eudianthe* (Rchb.) Rchb. або/та *Petrocoptis* A. Braun ex Endl. [16]. Цей рід у флорі України представлений лише одним видом – *H. carpathicum*, ендемом, що зростає на вологих скелях Карпат [1, 2]. Ще один ендемічний вид – *H. arcanum* Zapał. – вважається зниклим [7].

В деяких системах [2, 4, 12] з роду *Lychnis* часто виокремлюють *Coronaria*, до якого відносять *C. coriacea* та *C. flos-cuculi*. Останній вид інколи розглядають в межах окремого роду *Coscyganthe* (Reichenb.) Reichenb. [8, 9]. За результатами проведеного нами філогенетичного аналізу до кладу *Lychnis* входить не тільки *L. chalconica*, що є типовим видом роду, а і *L. flos-cuculi*. Розташування *L. chalconica*, *L. flos-cuculi* та *L. coriacea* в межах *Lychnis* підтверджується також численними молекулярно-філогенетичними реконструкціями [3, 21, 22]. Отже, у флорі України цей рід представлений трьома видами: *L. chalconica* – декоративний культивар, що іноді дичавіє [1, 2, 4]; *L. coriacea* – природним ареалом якого є Гірський Крим та частково Закарпаття, хоча цей вид широко поширений на території України як декоративний і має здатність до здичавіння [2, 4]; *L. flos-*

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю.  
*cusuli* – зростає на всій території України по берегах водойм, на болотах та луках, на узліссях [2, 4, 12].

Решта таксонів на філогенетичному дереві утворюють кладу «*Silene*». Сестринськими є класи, таксони яких інколи відносять до родів *Melandrium* та *Pleconax*. Розміщення цих таксонів в межах *Silene* підтверджується і проведеними раніше філогенетичними реконструкціями, проте груп з високою підтримкою, близьких до цих клад, поки не визначено [3, 15, 25, 26]. Види секції *Melandrium* характеризуються дводомністю, одностатевістю квіток, наявністю 10-ти або 20-ти жилок на чашечці, пелюстками з привіночком і двороздільною пластинкою, п'ятьма стилодіями та коробочкою, що розкривається подвійними зубцями [2, 9]. Такі унікальні морфологічні особливості, очевидно, і призвели до розгляду цієї секції як окремого роду *Melandrium* в цілій низці праць [2, 4, 8, 9]. Для флори України наводиться чотири види роду *Melandrium* – *M. album* (Mill.) Garcke, *M. latifolium* (Poir.) Maire, *M. eriocalycinum* Boiss. та *M. dioicum* (L.) Coss. et Germ. [8], – які, за молекулярно-філогенетичним аналізом, повинні розглядатися в межах *Silene*.

Види, які інколи відносять до окремого роду *Pleconax*, також мають ряд унікальних особливостей: однорічники; квітки двостатеві; чашечка з 20-30 жилками без

анастомозів, при плодах її нижня частина розширена, а верхня залишається звуженою;  $2n=20$ , тоді як у більшості представників триби  $2n=24$  [2, 9, 12]. Наразі за результатами філогенетичних досліджень види цього роду розглядають в межах роду *Silene* – як *Silene* sect. *Conoimorpha*. У флорі України ця секція представлена єдиним видом – *S. subconica*, що зростає на сухих схилах і приморських пісках [2, 4, 12].

Сестринською гілкою до *Silene* sect. *Melalandrium* і sect. *Conoimorpha*, згідно реконструкції, є *S. noctiflora*. Спорідненість цього виду до секцій *Melalandrium* та *Conoimorpha* підтверджується і проведеними раніше реконструкціями [3, 21, 25, 26]. Цей вид інколи розглядають в межах *Melandrium* [12], оскільки він також має одностатеві квітки. Проте стилодіїв у нього три, а коробочка розкривається шістьма зубцями, тому, відповідно, цей вид часто виокремлюють в самостійний рід *Elisanthe* [2, 8, 9]. *S. noctiflora* зростає майже на всій території України по узліссях та чагарниках [2, 4].

*S. vulgaris* як за результатами проведеного нами філогенетичного аналізу, так і за опублікованими реконструкціями [3, 15, 25, 26], виявилася спорідненою з *S. pendula*. Смілка звичайна (*S. vulgaris*), що зростає майже по всій території України, характеризується сильно здutoю голою чашечкою з



Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. анастомозуючими жилками [2, 4, 9, 13, 14]. Ця морфологічна особливість, очевидно, і призвела до виокремлення *S. vulgaris* та низки близьких видів (з них на території України зустрічаються *S. commutata* Guss., *S. cserei* Baumg., *S. crispata* Steven та *S. procumbens* Murr.) у рід *Oberna* [1, 8, 9]. *S. pendula*, навпаки, відносять до *Silene*, щоправда до різних секцій: *Concinosilene* [2, 12], *Erecto-refractae* Chowdh. [13, 14], *Psammophilae* (Talavera) Greuter [8]. В Україні цей вид зустрічається як культивар [1, 4].

Сестринською гілкою до *S. vulgaris* та *S. pendula* з високою підтримкою є *S. dichotoma*. Цей факт також підтверджується опублікованими раніше молекулярно-філогенетичними реконструкціями [3, 15]. Вид зростає в степовій та лісостеповій частинах України на полях, рідше відслоненнях, хоча на Поліссі та в Закарпатті також іноді зустрічається як бур'ян в посівах [2, 4, 12].

До субклади «*Silene* 2» увійшли два види – *S. viscosa* та ендемічний *S. zawadzki*. Обидва види інколи розглядають в межах роду *Elisanthe* [2, 4]. До цього роду також включали *S. noctiflora*, але за філогенетичним аналізом він виявився більш близьким до секцій *Melandrium* та *Conoimorpha* роду *Silene*. В деяких джерелах [8, 9] всі три види розглядаються як представники окремих родів: *S. zawadzki* – як *Silenanthe zawadzki*, *S. viscosa* – як *Carpophora viscosa* (L.)

Tzvelev, а *S. noctiflora* – як *Elisanthe noctiflora* (L.) Rupr. *S. viscosa* зростає на відкритих та степових ділянках Лісостепу і Степу. *S. zawadzki* – ендем Карпат, що на території України зростає на кам'янистих ґрунтах субальпійського поясу (Івано-Франківська та Чернівецька обл.) [2, 4].

Клада «*Silene* 3» є сестринською до клад «*Silene* 1» та «*Silene* 2» (з високим значенням апостеріорної ймовірності) і включає сиквенс досить поширеного в Україні виду – *S. baccifera*. Він характеризується унікальним плодом – нерозкривною ягодоподібною коробочкою, що і стало причиною його розгляду в межах окремого роду *Cucubalus* в цілій низці праць [2, 8, 9, 12-14]. Проте його розташування в межах роду *Silene* підтверджується численними молекулярно-філогенетичними реконструкціями [3, 15, 17, 21].

Решта досліджених таксонів увійшли до субклади «*Silene* 4». Окремою гілкою в ній виступають види, що належать до секцій *Spergulifoliae* Boiss. (*S. cappadocica*, *S. supina*, *S. syreistschikowii*) та *Auriculatae* Boiss. (*S. eriocalycina*). Ендемік Східного Криму *S. syreistschikowii*, сиквенс якого нами отримано вперше, є сестринським до *S. supina*. Останній зростає на Балканах, Кавказі та в Закавказзі, в Малій Азії, Причорномор'ї, басейнах Волги та Дону; в Україні часто

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. трапляється на різноманітних відслоненнях степової частини України [4, 14]. *S. syreistschikowii* та *S. supina* характеризуються значною морфологічною подібністю [4], іноді їх вважають синонімами [8]. Близьким до них також є *S. cappadocica*, що поширений на території Туреччини, Грузії та Ірану [14, 19]. Дещо відокремленим від наведених вище таксонів є *S. eriocalycina* (sect. *Auriculatae*), що зростає в Ірані та Іраці [19].

*S. viridiflora* має досить широкий ареал і зростає на півдні Європи (Іспанія, Франція, Італія, Туреччина, Молдова, Румунія, Словаччина, балканські країни, острови Корсика, Сардинія, Сицилія) [2, 13, 14]. Проте на території України цей вид знаходиться на північно-східній межі ареалу, зустрічається виключно в Закарпатті та Кримських горах і занесений до Червоної книги України [11]. Згідно з результатами проведеного філогенетичного аналізу, *S. viridiflora* виявилась сестринською гілкою до *S. nutans*, подібно до раніше опублікованої реконструкції [20]. *S. nutans* на території України зростає на галявинах та узліссях борів і дібров переважно на Поліссі та в Лісостепу [1, 2, 4]. Обидва види належать до секції *Siphonomorpha* Otth.

Сестринською гілкою до *S. viridiflora* та *S. nutans* є два інші види з цієї ж секції – *S. italica* та *S. nemoralis*. *S. italica* на території України зростає лише в Східному

Криму, а *S. nemoralis* – в Прикарпатті та Закарпатті [1, 2, 4].

Південнобузький ендем *S. sytnikii* вважається близьким до балканського виду *S. frivaldszkyana* [1, 6, 9], що теж підтверджується проведеним нами філогенетичним аналізом. *S. chlorantha*, що зростає в світлих лісах та на трав'янистих схилах на всій території України, за літературними даними є спорідненим до *S. sytnikii* та *S. frivaldszkyana* [6], проте за нашими результатами він є сестринським до *S. tatarica*. Останній зростає на луках, узліссях та по чагарниках майже на всій території України [4, 6]. Всі ці види належать до секції *Chloranthae* (Rohrb.) Schischk.

Типовий вид роду *Silene* – *S. gallica* – є сестринським до *S. multiflora*, щоправда з невисокою підтримкою. *S. gallica* (sect. *Cincinosilene* Rohrb.) поширений як бур'ян в західних областях України, *S. multiflora* (sect. *Chloranthae*) зростає в Лісостепу і Степу на луках, степових ділянках, солончакових схилах [1, 2, 4, 6].

*S. borysthenica* виявилась сестринською до *S. wolgensis*. *S. borysthenica* зростає на степових ділянках та узліссях майже по всій території України (за винятком Карпат); *S. wolgensis* поширена на солонцях, кам'янистих відслоненнях та степових ділянках в Лівобережному Лісостепу і Степу, рідше в східній частині Правобережного Степу [2, 4]. Спорідненим до цих видів є *S. otites*

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. (= *Otites cuneifolia* Raf.), який М.М. Цвельов [9] наводить для західних областей України. Ці види характеризуються дрібними одностатевими квітками, їх часто виокремлюють в рід *Otites*. Вперше секвенований ендемічний вид *S. cretacea* (sect. *Spergulifoliae*) виявся сестринським до секції *Otites*, щоправда з невисокою підтримкою. Таке розташування *S. cretacea* може пояснюватись її гібридогенним походженням. До того ж, отриманий нами сиквенс цього виду містить 4 сайти з однонуклеотидним поліморфізмом, що інколи можуть розглядатися як ознаки гібридизації. *S. sibirica* є сестринською до *Silene* sect. *Otites* та *S. cretacea*. Цей вид поширений на півдні Лісостепу та півночі Степу [2, 4]. Інколи його вважають проміжною ланкою між *Silene* sect. *Otites* та іншими видами роду *Silene*, оскільки за габітусом він нагадує види секції *Otites*, має дрібні квітки, які, проте, зазвичай є двостатевими [2, 6, 9].

#### Список використаних джерел

1. Екофлора України / ред. Я. П. Дідух. Київ: Фітосоціоцентр, 2002. Т. 3. 496 с.
2. Клоков М. В. Родина гвоздичні – Caryophyllaceae. В: Флора УРСР. Київ: Видавництво АН УРСР, 1952. Т. 4. С. 421–649.
3. Михайлова Ю. В., Крапивская Е. Е., Родионов А. В. Молекулярно-філогенетическое исследование самостоятельности рода *Xamilenis* Raf.

**Висновки.** Отже, результати молекулярно-філогенетичних досліджень показали, що раритетні види триби *Sileneae* відносяться до різних клад: *A. lithuanicum* та *A. hypanicum* розміщуються в межах клади *Atocion*, решта раритетних видів – в межах *Silene*. *S. syreistschikowii* є сестринською до *S. supina*; *S. viridiflora* – до *S. nutans*, а *S. zawadzki* – до *S. viscosa*, але не до *S. noctiflora*. *S. sytnikii* утворює єдину кладу з близьким до нього балканським видом *S. frivaldszkyana*. *S. cretacea* виявився сестринським до видів секції *Otites*, щоправда з невисокою підтримкою.

**Подяки.** Автори висловлюють щире подяку дирекції НПП «Дворічанський» та особисто заступнику директора А.І. Тупікову за зразок *Silene cretacea*, а також куратору Національного гербарію України (KW) к.б.н. Н.М. Шиян за надання матеріалу гербарного зразка *Silene sytnikii*.

в составе трибы *Sileneae*. *Экол. генет.* 2014. Т. 12, № 4. С. 15–24.

4. Определитель высших растений Украины / под ред. Ю. Н. Прокудина и др. Киев: Наукова думка, 1987. 548 с.

5. Тареев А. С., Гірін А. І., Карпенко Н. І., Тищенко О. В., Костіков І. Ю. Модифікована методика виділення ДНК з гербарних зразків. *Чорномор. ботан. журн.* 2011. Т. 7, № 4. С. 309–317.

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю.

6. Федорончук М. М. *Silene* L. sensu lato в Україні: огляд роду *Silene* sensu stricto (Caryophyllaceae). *Укр. ботан. журн.* 1997. Т. 54, № 6. С. 557–564.

7. Федорончук М. М. Аналіз ендемізму Caryophyllaceae Juss. флори України. *Укр. ботан. журн.* 2009. Т. 66, № 4. С. 541–549.

8. Федорончук М. М. Система родини Caryophyllaceae флори України. 2. Підродина Caryophylloideae. *Укр. ботан. журн.* 2016. Т. 73, № 1. С. 33–45.

9. Цвелев Н. Н. О родах трибы смолевковых (Sileneae DC., Caryophyllaceae) в Восточной Европе. *Новости сист. высш. раст.* 2001. Т. 33. С. 90–113.

10. Червона книга України. Рослинний світ / ред. Ю. Р. Шеляг-Сосонко. Київ: Українська енциклопедія ім. М.П. Бажана, 1996. 608 с.

11. Червона книга України. Рослинний світ / ред. Я. П. Дідух. Київ: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.

12. Шишкин Б.К. Lychnideae A.Br. В: Флора СССР. Москва-Ленинград: Изд. Акад. Наук СССР, 1936. Т. 6. С. 573–730.

13. Chater A. O., Walters S. M., Akeroyd J. R. *Silene*. In: *Flora Europaea* / eds. T. G. Tutin et al. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1993. P. 191–211.

14. Coode M. J. E., Collen J. *Silene* L. In: *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: University Press, 1967. Vol. 2. P. 179–242.

15. Desfeux C., Lejeune B. Systematics of Euromediterranean *Silene* (Caryophyllaceae): evidence from a phylogenetic analysis using ITS

sequences. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*. 1996. Sci. Vie. 319. P. 351–358.

16. Frajman B., Eggens F., Oxelman B. Hybrid origins and homoploid reticulate evolution within *Heliosperma* (Sileneae, Caryophyllaceae) – a multigene phylogenetic approach with relative dating. *Syst. Biol.* 2009. Vol. 58. P. 328–345.

17. Frajman B., Oxelman B. Reticulate phylogenetics and phytogeographical structure of *Heliosperma* (Sileneae, Caryophyllaceae) inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2007. Vol. 43. P. 140–155.

18. Frajman B., Heidari N., Oxelman B. Phylogenetic relationships of *Atocion* and *Viscaria* (Sileneae, Caryophyllaceae) inferred from chloroplast, nuclear ribosomal, and low-copy gene DNA sequences. *Taxon*. 2009. Vol. 58, № 3. P. 811–824.

19. Melzheimer V. *Silene*. In: Rechinger K. H., Melzheimer V., Möschl W., Schiman-Czeika H. *Flora des Iranischen hochlandes und der umranchenden Gebirge*. Graz: Akademische druck Verlagsanstalt, 1988. Vol. 163. P. 341–508.

20. Naciri Y., Du Pasquier P.-E., Lundberg M., Jeanmonod D., Oxelman B. A phylogenetic circumscription of *Silene* sect. *Siphonomorpha* (Caryophyllaceae) in the Mediterranean Basin. *Taxon*. 2017. Vol. 66, № 1. P. 91–108.

21. Oxelman B., Lidén M. Generic boundaries in the tribe Sileneae (Caryophyllaceae) as inferred from nuclear rDNA sequences. *Taxon*. 1995. Vol. 44. P. 525–542.

22. Oxelman B., Lidén M., Berglund D. Chloroplast rps16 intron

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Pl. Syst. Evol.* 1997. Vol. 206. P. 393–410.

23. Oxelman B., Lidén M., Rabeler R. K., Popp M. A. A revised generic classification of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Nord. J. Bot.* 2000. Vol. 20, № 6. P. 743–748.

24. Popp M., Oxelman B. Evolution of a RNA polymerase gene family in *Silene* (Caryophyllaceae) – incomplete concerted evolution and topological congruence among paralogues. *Syst. Biol.* 2004. Vol. 53, № 6. P. 914–932.

25. Rautenberg A., Hathaway L., Oxelman B., Prentice H. C. Geographic and phylogenetic patterns in *Silene* section *Melandrium* (Caryophyllaceae) as inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2010. Vol. 57. P. 978–991.

26. Rautenberg A., Sloan D. B., Aldén V., Oxelman B. Phylogenetic relationships of *Silene multinervia* and *Silene* section *Conoimorpha* (Caryophyllaceae). *Syst. Bot.* 2012. Vol. 37, №1. P. 226–237.

27. Ronquist F., Teslenko M., Mark P., Ayres D. L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A., Huelsenbeck J. P. MRBAYES 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Syst. Biol.* 2012. Vol. 61, № 3. P. 539–542.

28. Thompson J.D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994. Vol. 22. P. 4673–4680.

29. White T. J., Bruns T., Lee S.,

Taylor J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press, 1990. P. 315–322.

### References

1. Didukh, Ya. P. ed. (2002). Ecoflora of Ukraine [Ekoflora Ukrainy]. Kyiv: Fitosotsiotsentr, 2002, vol. 3, 496.

2. Klovov, M. V. (1952). Carnation family – Caryophyllaceae [Rodyna hvozdychni – Caryophyllaceae]. In Flora of UkrSSR [Flora URSR] (Vol. 4, pp. 421–649). Kyiv: Vydavnytstvo AN URSR.

3. Mikhaylova, Yu. V., Krapivskaya, E. E., Rodionov, A. V. (2014). Molecular phylogeny study of *Xamilenis* Raf. recognition as the segregate genus in the tribe Sileneae [Molekulyarno-filogeneticheskoye issledovaniye samostoyatel'nosti roda *Xamilenis* Raf. v sostave triby Sileneae]. *Ecological Genetics*, 12 (4), 15–24.

4. Prokudin, Yu. N. et al. ed. (1987). Identification key to higher plants of Ukraine [Opredelitel' vysshikh rasteniy Ukrainy]. Kyiv: Naukova dumka, 548.

5. Tarieiev, A. S., Girin, A. I., Karpenko, N. I., Tyshchenko, O. V., Kostikov, I. Yu. (2011). Modified method of DNA extraction from herbarium specimens [Modyfikovana metodyka vydilennia DNK z herbarnykh zrazkiv]. *Chornomorski Bot. J.*, 7 (4), 309–317.

6. Fedoronchuk, M. M. (1997). *Silene* L. sensu lato in Ukraine: a taxonomic review of *Silene* sensu stricto (Caryophyllaceae) [*Silene* L. sensu lato v Ukraini: ohliad rodu *Silene* sensu stricto (Caryophyllaceae)]. *Ukr. Bot. J.*, 1997,

- Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. 54 (6), 557–564.
7. Fedoronchuk, M. M. (2009). An analysis of endemism of Caryophyllaceae Juss. in the flora of Ukraine [Analiz endemizmu Caryophyllaceae Juss. flory Ukrainy]. Ukr. Bot. J., 66 (4), 541–549.
8. Fedoronchuk, M. M. (2016). System of the family Caryophyllaceae in the Ukrainian flora. 2. Subfamily Caryophylloideae [Systema rodny Caruophyllaceae flory Ukrainy. 2. Pidrodyna Caryophylloideae]. Ukr. Bot. J., 73 (1), 33–45. doi: 10.15407/ukrbotj73.01.033
9. Tzvelev, N. N. (2001). De generibus tribus Sileneae DC. (Caryophyllaceae) in Europa Orientali [O rodakh triby smolevkovykh (Sileneae DC., Caryophyllaceae) v Vostochnoy Evrope]. Novitates Systematicae Plantarum Vascularum, 33, 90–113.
10. Sheliakh-Sosonko, Yu. R. ed. (1996). Red Book of Ukraine. Plant Kingdom [Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit]. Kyiv: Ukrainska entsyklopediia im. M. P. Bazhana, 608.
11. Didukh, Ya. P. ed. (2009). Red Book of Ukraine. Plant Kingdom [Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit]. Kyiv: Hlobalkonsaltnh, 900.
12. Shyshkyn, B. K. (1936). Lychnideae A.Br. In Flora of USSR [Flora SSSR]. (Vol. 6, pp. 573–730). Moskva-Leningrad: Izd. Akad. Nauk SSSR.
13. Chater, A. O., Walters, S. M., Akeroyd, J. R. (1993). *Silene*. In: Tutin, T. G. et al. ed. Flora Europaea. (Vol. 1, 191–211). Cambridge: Cambridge Univ. Press.
14. Coode M. J. E., Collen J. (1967). *Silene* L. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. (Vol. 2, 179–242). Edinburgh: Edinburgh University Press.
15. Desfeux, C., Lejeune B. (1996). Systematics of Euromediterranean *Silene* (Caryophyllaceae): evidence from a phylogenetic analysis using ITS sequences. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 319, 351–358.
16. Frajman, B., Eggens, F., Oxelman, B. (2009). Hybrid origins and homoploid reticulate evolution within *Heliosperma* (Sileneae, Caryophyllaceae) – a multigene phylogenetic approach with relative dating. Syst. Biol., 58, 328–345. doi: 10.1093/sysbio/syp030
17. Frajman, B., Oxelman, B. (2007). Reticulate phylogenetics and phytogeographical structure of *Heliosperma* (Sileneae, Caryophyllaceae) inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. Mol. Phylogenet. Evol., 43, 140–155. doi:10.1016/j.ympev.2006.11.003
18. Frajman, B., Heidari, N., Oxelman, B. (2009). Phylogenetic relationships of *Atocion* and *Viscaria* (Sileneae, Caryophyllaceae) inferred from chloroplast, nuclear ribosomal, and low-copy gene DNA sequences. Taxon, 58 (3), 811–824.
19. Melzheimer, V. (1988). *Silene*. In Rechinger, K. H., Melzheimer, V., Möschl, W., Schiman-Czeika, H. eds. Flora des Iranischen hochlandes und der umranchenden Gerbigen. (Vol. 163, 341–508). Graz: Akademische druck Verlagsanalt.
20. Naciri, Y., Du Pasquier, P.-E., Lundberg, M., Jeanmonod, D., Oxelman, B. (2017). A phylogenetic circumscription of *Silene* sect. *Siphonomorpha* (Caryophyllaceae) in the Mediterranean Basin. Taxon, 66 (1), 91–108. doi: 10.12705/661.5

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю.

21. Oxelman, B., Lidén, M. (1995). Generic boundaries in the tribe Sileneae (Caryophyllaceae) as inferred from nuclear rDNA sequences. *Taxon*, 44, 525–542.

22. Oxelman, B., Lidén, M., Berglund, D. (1997). Chloroplast rps16 intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Pl. Syst. Evol.*, 206, 393–410.

23. Oxelman, B., Lidén, M., Rabeler, R. K., Popp M. A. (2000). A revised generic classification of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Nord. J. Bot.*, 20 (6), 743–748.

24. Popp, M., Oxelman, B. (2004). Evolution of a RNA polymerase gene family in *Silene* (Caryophyllaceae) – incomplete concerted evolution and topological congruence among paralogues. *Syst. Biol.*, 53 (6), 914–932. doi: 10.1080/10635150490888840

25. Rautenberg, A., Hathaway, L., Oxelman, B., Prentice, H. C. (2010). Geographic and phylogenetic patterns in *Silene* section *Melandrium* (Caryophyllaceae) as inferred from chloroplast and nuclear DNA sequences. *Phylogenet. Evol.*, 57, 978–991. doi: 10.1016/j.ympev.2010.08.003

26. Rautenberg, A., Sloan, D. B., Aldén V., Oxelman, B. (2012). Phylogenetic relationships of *Silene multinervia* and *Silene* section *Conoimorpha* (Caryophyllaceae). *Syst. Bot.*, 37 (1), 226–237. doi: 10.1600/036364412X616792

27. Ronquist, F., Teslenko, M., Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., Huelsenbeck, J. P. (2012). MRBAYES 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Syst Biol.*, 61 (3), 539–542. doi: 10.1093/sysbio/sys029

28. 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 Res.*, 22, 4673–4680.

29. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. New York: Academic Press, 315–322.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАРИТЕТНЫХ ВИДОВ ТРИБЫ SILENEAE ФЛОРЫ УКРАИНЫ

В. А. Мартинюк, Н. И. Карпенко, И. Ю. Костіков

**Аннотация.** Во флоре Украины насчитывается 59 видов трибы *Sileneae* DC. (Caryophyllaceae), семь из которых занесены в Красную книгу Украины (2009). Однако большинство раритетных таксонов на генетическом уровне ранее не

исследовались. Цель нашей работы заключалась в выявлении филогенетических связей раритетных таксонов трибы. Молекулярно-филогенетическую реконструкцию проводили для последовательностей ITS1-5,8S-ITS2 с применением Байесовского подхода. На полученном дереве таксоны сгруппировались в пять клад: *Atocion*, *Viscaria*, *Heliosperma*, *Lychnis* и *Silene* с 4 субкладами. В кладу *Atocion* вошло два эндемичных вида – *Atocion lithuanicum*

Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. (Zapał.) Tzvel. u A. hypanicum (Klok.) Tzvel. *Остальные паритетные таксоны входят в разные субклады Silene. S. zawadzki Herbach, который иногда рассматривается в пределах рода Elisanthe (Fenzl) Fenzl или Silenanthe (Fenzl) Griseb. & Schenk, принадлежит ко второй субкладе рода Silene L.; сестринским к нему является S. viscosa Pers. S. syreistschikowii P. Smirn. размещается в пределах четвертой субклады и является сестринским к S. supina M. Bieb., который, по литературным данным, считается к нему близким. S. sytnikii Krytzka, Novosad et Protopopova также формирует кладу с близким к нему S. frivaldszkyana Hampe. S. viridiflora L. является сестринским видом к S. nitans L. Эндем S. cretacea Fisch. ex Spreng. оказался близким к представителям секции Otites (Adans.) Otth, но с небольшой поддержкой.*

**Ключевые слова:** Caryophyllaceae, Silene, Atocion, ITS, метод Байеса

## MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS OF RARE SILENEAE SPECIES OF THE UKRAINIAN FLORA

V.O. Martyniuk, N.I. Karpenko, I.Yu. Kostikov

**Abstract.** The tribe Sileneae DC. (Caryophyllaceae) is estimated to contain 59 species in the Ukrainian flora, seven of which are listed in the Red Data Book of Ukraine (2009). Some of these taxa still do not have any registered sequences in the GenBank.

The aim of the present study is to infer phylogenetic relationships of Ukrainian rare species within the

*Sileneae* tribe from nucleotide variation in the nrDNA.

ITS1-5.8S-ITS2 regions were sequenced for 11 taxa (12 sequences in total): *Lychnis chalconica* L., *L. floccuculi* L., *Silene baccifera* (L.) Roth, *S. chlorantha* (Willd.) Ehrh., *S. cretacea* Fisch. ex Spreng., *S. frivaldszkyana* Hampe (2 sequences), *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova, *S. syreistschikowii* P. Smirn., *S. supina* M. Bieb., *S. vulgaris* (Moench) Garcke, and *S. zawadzki Herbach*. In addition to the obtained nrDNA fragments, 39 sequences of *Sileneae* were imported from GenBank. *Agrostemma githago* L. JN589107 was used as an outgroup. In total, 51 sequences were used to reconstruct the phylogeny using Bayesian inference.

In the obtained phylogenetic tree, five major branches are observed: *Atocion*, *Viscaria*, *Heliosperma*, *Lychnis*, and *Silene*. Two rare species – *Atocion lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. and *A. hypanicum* (Klok.) Tzvel. – are placed within *Atocion* clade. Endemic *Heliosperma carpaticum* (Zapał.) Klok. is sister to *H. alpestre* (Jacq.) Griseb. *Viscaria* and *Lychnis* clades do not contain any rare taxa. Four subclades are observed in *Silene*. The Carpathian endemic *Silene zawadzki* (= *Silenanthe zawadzki* (Herbach) Griseb. et Schenk, = *Elisanthe zawadzki* (Herbach) Klok.) is sister to *S. viscosa* Pers. (= *Carpophora viscosa* (L.) Tzvelev, = *Elisanthe viscosa* (L.) Rupr.), but not to *S. noctiflora* (= *Elisanthe noctiflora* (L.) Willk.) and is nested within the second subclade of *Silene*. Other rare taxa are placed within the fourth subclade. Endemic to Eastern Crimea *S. syreistschikowii* forms a clade with closely related *S. supina* M. Bieb.



Мартинюк В. О., Карпенко Н. І., Костіков І. Ю. Sister to them is *S. cappadocica* Boiss. & Heldr., which belongs to the same section *Spergulifoliae* Boiss. Widely distributed species in Southern Europe, but rare in Ukraine *S. viridiflora* L. has sister relationship to *S. nutans* L.; *S. italica* (L.) Pers. and *S. nemoralis* Waldst. & Kit. are also related to them. These four species belong to *Silene* sect. *Siphonomorpha* Otth. Ukrainian local endemic species *S. sytnikii* forms a single clade with Balkanian *S. frivaldszkyana* Hampe. Rare species *S. cretacea* is, surprisingly, sister to a group of taxa with small unisexual flowers from the sect. *Otites* (Adans.) Otth, but with low posterior probability.

**Keywords:** *Caryophyllaceae*, *Silene*, *Atocion*, ITS, Bayesian inference