

**Міністерство освіти і науки України  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка**

**МАРТИНЮК ВІКТОРІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА**

УДК 582.669.26:[ 577.212.3+581.331.2+581.48+581.45]:581.961

**МОЛЕКУЛЯРНА АНОТАЦІЯ РАРИТЕТНИХ ВИДІВ  
ТРИБИ *SILENEAE* DC. ФЛОРИ УКРАЇНИ**

03.00.05 – ботаніка

Автореферат дисертації  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано на кафедрі біології рослин ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка Міністерства освіти і науки України

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор  
**Костіков Ігор Юрійович,**  
ННЦ «Інститут біології та медицини»  
Київського національного університету  
імені Тараса Шевченка,  
професор кафедри біології рослин

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Федорончук Микола Михайлович,**  
Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України,  
провідний науковий співробітник  
відділу систематики та флористики судинних рослин

кандидат біологічних наук, доцент  
**Лисенко Геннадій Миколайович,**  
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя,  
доцент кафедри біології

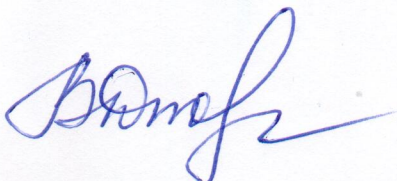
Захист дисертації відбудеться 19 березня 2019 р. о 14<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.14 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, просп. акад. Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, спеціалізована вчена рада Д 26.001.14.

З дисертацією можна ознайомитися у Науковій бібліотеці імені М. О. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12.

Автореферат розісланий «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради



В. В. Джаган

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** У зв'язку зі зростаючим антропогенним впливом на природні та квазіприродні екосистеми світу і, зокрема, України, важливим завданням є вивчення і охорона біорізноманіття. Особливу цінність мають рідкісні види, збереження яких є важливим завданням світового масштабу, відображеним у міжнародних конвенціях (Конвенція про біологічне різноманіття, 1992; Конвенція про охорону дикої флори та фауни ... 1979, тощо). Проте імплементація положень цих конвенцій можлива лише на локальному рівні, і, відповідно, вивчення та збереження раритетних видів є важливим національним завданням.

Чимала кількість представників триби *Sileneae* DC. в Україні є ендемічними чи рідкісними видами, та потребують як охорони, так і різнопланових спеціальних досліджень. Крім того, ряд раритетних видів триби (наприклад, *Atocion hypanicum*<sup>1</sup>, *A. lithuanicum*, *Silene sytnikii*, *S. syreistschikowii*) є критичними в систематичному відношенні. Нестача або повна відсутність молекулярно-генетичних даних щодо українських ендеміків дає підстави для різного трактування спірних видів. Це призводить, з одного боку, до необґрунтованого виключення раритетних видів з природоохоронних списків через помилкове віднесення їх до молодших синонімів широко розповсюджених видів, з іншого – до необґрунтованого включення до таких списків синонімічних назв, що помилково розглядаються як самостійні види.

Тому молекулярна анотація та уточнення на її підставі статусу раритетних таксонів регіональних флор є актуальною проблемою для будь-яких критичних у систематичному відношенні груп, в тому числі і триби *Sileneae*.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалася в рамках держбюджетних наукових тем 11БФ036-02 «Збереження біорізноманіття та комплексне дослідження стратегій адаптації фіто-, зоо- та віробіоти України з використанням біоінформаційних технологій» та 16КФ036-07 «Інноваційні підходи вирішення проблемних питань різноманітності флори та мікобіоти України».

**Мета і завдання дослідження.** *Мета роботи* – на основі молекулярно-генетичних даних в поєднанні з фенотипними підходами з'ясувати таксономічний статус раритетних таксонів триби *Sileneae* флори України.

Для досягнення мети було поставлено наступні *завдання*:

- отримати маркерні послідовності ITS1-5,8S-ITS2 кластеру ядерних рибосомальних генів раритетних таксонів триби *Sileneae* флори України;
- на основі молекулярно-філогенетичного аналізу здійснити інтеграцію цих таксонів у філогенетичну систему триби;
- використовуючи аналіз вторинних структур маркерних послідовностей ITS1 та ITS2 на основі молекулярної концепції виду встановити таксономічний ранг раритетних представників триби;
- для критичних таксонів та близьких до них видів здійснити пошук додаткових фенотипних ознак (в першу чергу, пов'язаних з мікроморфологічними

<sup>1</sup> Автори таксонів наведені у переліку раритетних видів триби *Sileneae* флори України, с. 3-4

особливостями пилкових зерен, насінин та листкових пластинок), які узгоджуються з молекулярно-генетичними даними щодо статусу цих операційних одиниць.

*Об'єкт дослідження* – раритетні види триби Sileneae флори України.

*Предмет дослідження* – молекулярно-генетичні особливості раритетних таксонів.

*Методи дослідження*: молекулярно-генетичні, оптичної та сканувальної електронної мікроскопії, класичні морфологічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** З використанням молекулярно-філогенетичних методів подальшого розвитку набула система триби Sileneae, в якій встановлено місце українських раритетних видів та визначено їх таксономічний статус. Вперше для світової флори отримано послідовності ITS1-5,8S-ITS2 семи таксонів (*Atocion lithuanicum*, *A. hypanicum*, *A. lithuanicum* × *armeria*, *Silene cretacea*, *S. sytnikii*, *S. syreistschikowii*, *S. jailensis*), сиквенси ще семи таксонів (*S. supina*, *S. zawadzki*, *S. vulgaris*, *S. baccifera*, *S. chlorantha*, *Lychnis chalcedonica*, *L. flos-cuculi*) вперше отримано для об'єктів флори України. Загалом отримано та депоновано до GenBank 19 послідовностей 17-и таксонів (коди доступу KY989963, KM975935, KJ616753, KY989962, KY989964, KY989965, MH307957, MH299878, MH312029, MH333071, MH340547, MH320790, MH333087, MK084861, MH333090, MH341924, MH329676, MH333099, MH333104).

Проведено порівняльний аналіз вторинних структур послідовностей ITS1 та ITS2 та на його підставі встановлено ранг операційних таксономічних одиниць. Вперше вивчено мікоморфологічні особливості поверхні листкових пластинок восьми таксонів, насінин чотирьох таксонів та пилкових зерен одного виду.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень показали, що *A. lithuanicum*, *A. hypanicum*, *S. cretacea* та *S. zawadzki* є самостійними видами, а, отже, потребують включення до «Флор» і «Визначників». *Silene syreistschikowii* запропоновано розглядати як молодший синонім *S. supina*, а *S. sytnikii* – як *S. frivaldszkyana* Hampe. Наведено перелік видів, що потребують охорони на державному, європейському та світовому рівнях. Отримані електронно-мікроскопічні зображення можуть бути використані при створенні атласів, палінологічних зведень, а депоновані у GenBank нуклеотидні послідовності – для молекулярної ідентифікації цих видів. Матеріали досліджень використані при підготовці методичних рекомендацій для студентів, що проходять практику в Канівському природному заповіднику та студентів інших навчальних закладів.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним завершеним дослідженням. Спільно з керівником розроблено наукову концепцію дослідження, сформульовано мету та визначено задачі. Обробка матеріалів, аналіз результатів і формулювання висновків здійснені автором самостійно. Молекулярно-генетичний аналіз проведено на кафедрі ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка, дослідження пилкових зерен, насінин та поверхні листкових пластинок – в лабораторії електронної мікроскопії Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України. Наукові статті та матеріали конференцій підготовлені у співавторстві та містять пропорційний внесок здобувача. Права авторів не порушені.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації були

представлені на засіданнях кафедри біології рослин Київського національного університету імені Тараса Шевченка та міжнародних наукових і науково-практичних конференціях «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Ужгород, 2012), «Шевченківська весна: біологія-2015» (Київ, 2015), «Природа Полісся: дослідження та охорона» (Сарни, 2014), «Молодь і поступ біології» (Львів, 2016), «Современные проблемы экспериментальной ботаники» (Мінськ, 2017).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 20 наукових праць, зокрема 1 статтю у зарубіжному науковому виданні, 1 – у фаховому виданні, що входить до міжнародних наукометричних баз даних, 3 – у фахових виданнях України, 3 статті – у вітчизняних виданнях, що входять до наукометричних баз, 1 – в інших наукових періодичних виданнях та 11 публікацій у збірниках матеріалів і тез наукових та науково-практичних конференцій.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, десяти розділів, висновків, списку використаних літературних джерел (315 найменувань) та трьох додатків. Загальний обсяг роботи становить 217 сторінок, основний текст займає 121 сторінку. Робота містить 57 рисунків та 28 таблиць.

**Подяки.** Автор висловлює щирі подяки за консультації при проведенні молекулярно-генетичних досліджень та поради к.б.н. Н. І. Карпенко (Київський національний університет імені Тараса Шевченка), а також к.б.н. О. М. Царенко (Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України) за консультації та сприяння у проведенні мікрморфологічних досліджень.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

### **ІСТОРІЯ ТАКСОНОМІЧНОГО ВИВЧЕННЯ ТРИБИ *SILENEAE* DC. ТА ЇЇ МІСЦЕ В СИСТЕМІ ПОКРИТОНАСІННИХ**

Подано короткий історичний огляд основних фенотипних систем триби (Braun, 1843; Döhl, 1843; Rohrbach, 1868; Williams, 1896; Шишкин, 1936; Клоков, 1952; Chowdhuri, 1957; Иконников, 1987; Greuter, 1995; Цвелев, 2001; Федорончук, 2016), розглянуто обсяг триби за даними різних авторів, об'єм родів і критеріїв для їх розмежування. Також наведено молекулярно-філогенетичну систему триби та розміщення таксонів на опублікованих реконструкціях (Oxelman, Liden, 1995; Desfeux, Lejeune, 1996; Oxelman et al., 1997; Oxelman et al., 2000; Frajman, Oxelman, 2007; Frajman et al. 2009; Михайлова и др., 2014 та ін.). Проведений аналіз складає основу для визначення раритетних, в т.ч. критичних, таксонів флори України.

### **РАРИТЕТНІ ВИДИ ТРИБИ У ФЛОРИ УКРАЇНИ**

В роботі розглядаються раритетні види триби *Sileneae*, що наразі охороняються на державному та міжнародному рівнях, а також *S. syreistschikowii*, який через спірний видовий статус не був включений до останнього видання Червоної книги України (2009). Загальний список операційних таксономічних одиниць, які на початок нашого дослідження відносили до раритетних видів триби *Sileneae* флори України включає:

*Atocion lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. – ендемік Полісся (Червона ..., 2009), спірний вид, інколи наводиться як молодший синонім *A. armeria* (L.) Raf. чи його різновид.

*Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel. – вузьколокальний південнобузький ендемік (Червона ..., 2009), критичний таксон, який часто наводиться як молодший синонім *A. compactum* (Fisch.) Tzvel.

*Silene sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova – вузьколокальний понтичний ендемік (Червона ..., 2009), що є критичним в систематичному відношенні; близькими до нього вважаються *S. frivaldskyana* Hampe та *S. chlorantha* (Willd.) Ehrh.

*Silene syreistschikowii* P. Smirn. – вузьколокальний ендемік Криму, включений до попереднього видання Червоної книги України (1996), близький до *S. supina* M. Bieb. і часто наводиться як його синонім.

*Silene jailensis* N. I. Rubtz. – вузьколокальний реліктовий кримський ендемік, (Червона ..., 2009); інколи вважається близьким до *S. caryophylloides* (Poir.) Otth.

*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng – реліктовий нижньодонсько-сіверсько-донський ендемік, що охороняється на державному (Червона..., 2009) та міжнародному (European ..., 2011; Convention ..., 1979) рівнях.

*Silene viridiflora* L. – середземноморсько-панонський вид, який в Україні знаходиться на північно-східній межі ареалу і є рідкісним (Червона ..., 2009).

*Silene zawadzki* Herbich – ендемік Східних та частково Південних Карпат (Червона ..., 2009).

*Silene vulgaris* (Moench) Garcke – широко поширений в Україні вид, що включений до Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи (ver. 3.1, <https://www.iucnredlist.org>).

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводились протягом 2012-2018 рр. Автором критично опрацьовані матеріали гербаріїв KW, KWU, LW, LWKS та YALT. До досліджень також були залучені зразки, зібрані в експедиційних виїздах у Рівненську, Херсонську, Харківську обл., м. Київ, АР Крим, а також у Ставропольський край та Карачаєво-Черкеську республіку Російської Федерації. Крім того, в роботі використано зразки, отримані за *Delectus seminum* з ботанічних садів Віденського та Латвійського університетів, а також зразки, люб'язно надані А. І. Тупіковим, О. В. Тищенко та В. В. Буджаком.

**Методи молекулярно-генетичного аналізу.** Тотальну ДНК виділяли модифікованим СТАВ-методом (Тарєєв та ін., 2011). Для ампліфікації та сиквенування використано універсальні евкаріотичні праймери ITS1, ITS4, ITS5, ITS6 та ITS9 (White et al., 1990). Сиквенування здійснено на комерційній основі в компанії Macrogen Inc. Скринінг колекції сиквенсів у GenBank здійснено пошуковою системою BLAST (Altschul et al., 1990). Вирівнювання послідовностей проведено за допомогою алгоритму ClustalW в BioEdit (Hall, 1999) та відкоректовано вручну на основі моделей вторинної структури. Побудову філогенетичного дерева здійснено на основі Баєсового підходу з гамма-розподілом зваженої моделі (GTR+G+I) в програмі MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012); кількість реплікацій за методом Монте-Карло складала до 150000 для отримання стандартного відхилення в межах 0,01.

Реконструкцію вторинних структур транскриптів ITS1, 5,8S та ITS2 проведено за допомогою Mfold (Zuker, 2009), а їх візуалізацію – PseudoViewer 3.0 (Byun, Han,

2009). Оцінку рангу досліджуваних таксонів проводили шляхом аналізу ступеня відмін у вторинній структурі ITS-последовностей, що узгоджуються з біологічною концепцією виду (Coleman, 2009). Зокрема, таксони, що різнилися наявністю компенсаторної заміни (CBC) у вторинній структурі последовності ITS2, розглядали як представників різних родів. Таксони, відміни між якими у ITS последовностях пов'язані з наявністю напівкомпенсаторних заміни (hCBC) чи структурних (sst) відмін, розглядали як різні види одного роду. Неструктурні відміни (nst) розглядали як певні часові маркери розходження двох таксонів, що мають ранг нижчий видового, або є близькими видами. Для однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) однозначної таксономічної інтерпретації не розроблено, саме тому було проведено досліді міжвидової гібридизації *A. lithuanicum* та *A. armeria* з одночасним аналізом відмін у вторинних структурах гібридів та вихідних батьківських форм.

**Методи мікрморфологічного аналізу.** Насінини, пилкові зерна та фрагменти листових пластинок досліджували та фотографували з використанням сканувального електронного мікроскопу (JSM-6060 LA) з прискорюючим напруженням 30 кВ. Додатково також використовували світловий мікроскоп Carl Zeiss Primo Star. Вимірювання проводили при обробці мікрофотографій у програмі AxioVision 4.8 або за допомогою окулярної мікрометричної лінійки. Статистичну обробку даних проводили за допомогою загальноприйнятих методів (Лакин, 1990), мінімальна повторність вимірів для одного параметру – 30-и кратна.

## МОЛЕКУЛЯРНА АНОТАЦІЯ ТА ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ РАРИТЕТНИХ ТАКСОНІВ

Нами було отримано, проведено анотацію та задепоновано у GenBank 19 нуклеотидних последовностей ITS1-5,8S-ITS2 для 17 таксонів триби.

На основі філогенетичного аналізу проведено оцінку і верифікацію різних систем триби (рис. 1). Отримана топологія таксонів на рівні родів (макроклад) в цілому збігається з системою В. Oxelman зі співавт. (2000) та включає п'ять груп, які відповідають родам, – *Atocion* Adans., *Viscaria* Bernh., *Heliosperma* Rchb., *Lychnis* L. та *Silene* L. При цьому, в більшості випадків отримана філогенетична реконструкція на рівні мікроклад співпадає з морфологічними системами (Цвельов, 2001; Федорончук, 2016), проте статус деяких таксонів (*Otites* Adans., *Oberna* Adans., *Cucubalus* L. та ін.) в цих системах є завищеним.

На отриманій реконструкції *A. lithuanicum* та *A. hypanicum* розміщуються в межах *Atocion*, решта раритетних таксонів – в межах двох груп *Silene*, а саме підродів *Behenantha* (Oth) Schur. (*S. vulgaris*, *S. zawadzki*) та *Silene* (*S. syreistschikowii*, *S. viridiflora*, *S. sytnikii*, *S. cretacea*). В межах мікроклади «*Oberna*» розміщується *S. vulgaris*, сестринським до нього є *S. pendula* L. Ендемік *S. zawadzki* та *S. viscosa* Pers. формують стійку групу «*Elisanthe*». *Silene syreistschikowii* є сестринським до *S. supina* та входить до «*Spergulifoliae*». *Silene viridiflora* разом з *S. nutans* L. розміщується в межах групи «*Italicae & Viridiflorae*». *Silene sytnikii* утворює єдину кладу з *S. frivaldszkyana*, віддалену від *S. chlorantha*. Розміщення *S. cretacea* в межах підроду *Silene* потребує уточнення.



## ТАКСОНОМІЧНИЙ СТАТУС КРИТИЧНИХ ВИДІВ

*Atocion lithuanicum*. Молекулярно-генетичний аналіз. Для уточнення таксономічного статусу використовували отримані нами сиквенси (*A. lithuanicum* KY989962 та *A. armeria* KY989963) та імпортовані з GenBank *A. armeria* (FJ384026, FJ384027, X86880).

За вторинною структурою послідовності ITS1 *A. lithuanicum* чітко відрізняється від більшості сиквенсів *A. armeria* наявністю CBC (66,74.G-C→A-U), чотирьох hCBC (58.C-G→U-G; 77.G-C→G-U; 119.G-C→G-U; 123.G-C→G-U) та двох sst (65,75.U...C→C-G; 99.G→U) (рис. 2).

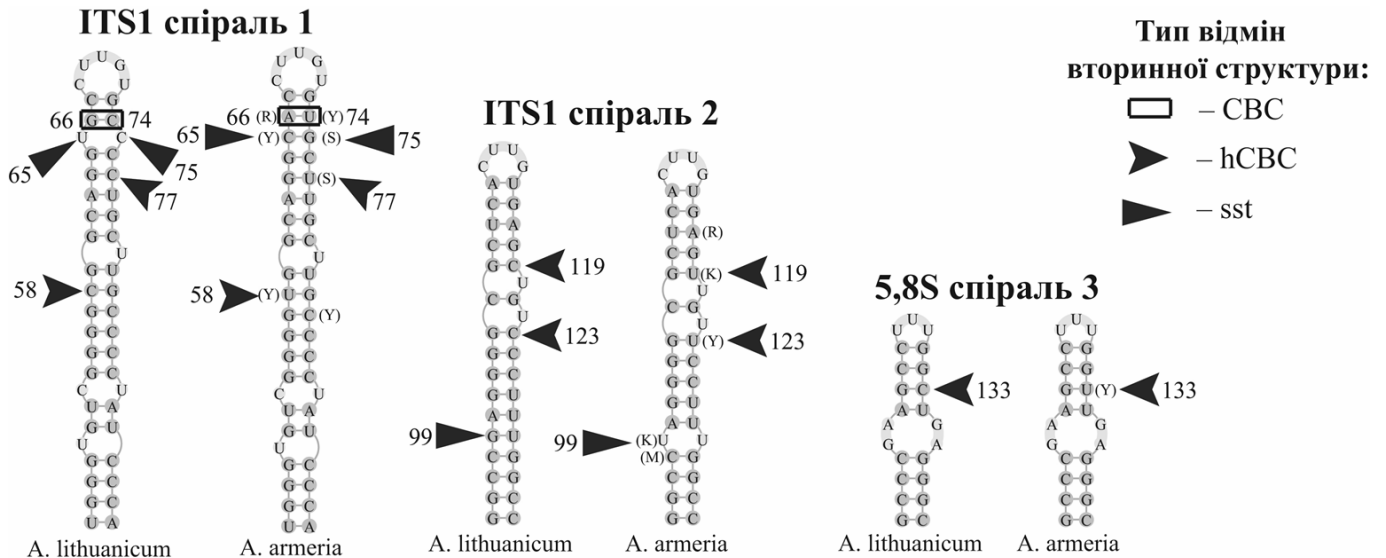


Рис. 2. Найбільш інформативні відмінні вторинних структур спіралей послідовностей ITS1 та 5,8S *Atocion lithuanicum* та *A. armeria*, що показують відокремленість цих видів

Наявність CBC є суттєвою діагностичною ознакою; така відміна у послідовності ITS2 могла б свідчити про те, що таксони належать до різних родів. Проте таксономічна інтерпретація наявності CBC саме у послідовності ITS1, на відміну від ITS2, не розроблена. Ми вважаємо, що така відміна в ITS1 має нижчий ранг, ніж в ITS2, оскільки приналежність цих таксонів до одного роду як на молекулярно-філогенетичних кладограмах, так і за комплексом морфологічних ознак сумнівів не викликає.

За послідовністю ITS2 таксони розрізняються лише наявністю неструктурної зміни – nst (172.C→U).

Сиквенси *A. lithuanicum* та *A. armeria* також відрізняються наявністю hCBC (133.G-C→G-U) у висококонсервативному гені 5,8S, що додатково підсилює висновок про видову самостійність цих таксонів.

Мікроморфологічний аналіз (рис. 3). Знайдено ряд ознак, пов'язаних з мікроморфологією пилоквих зерен (край, діаметр пори, кількість скульптурних елементів на порі, скульптура екзини, розміри перфорацій) та насінин (розміри, форма, розміри клітин екзотести дистального ряду, кількість та розміри зубців антиклинальної стінки, наявність папіл), що дозволяють розмежувати *A. lithuanicum* та *A. armeria*.

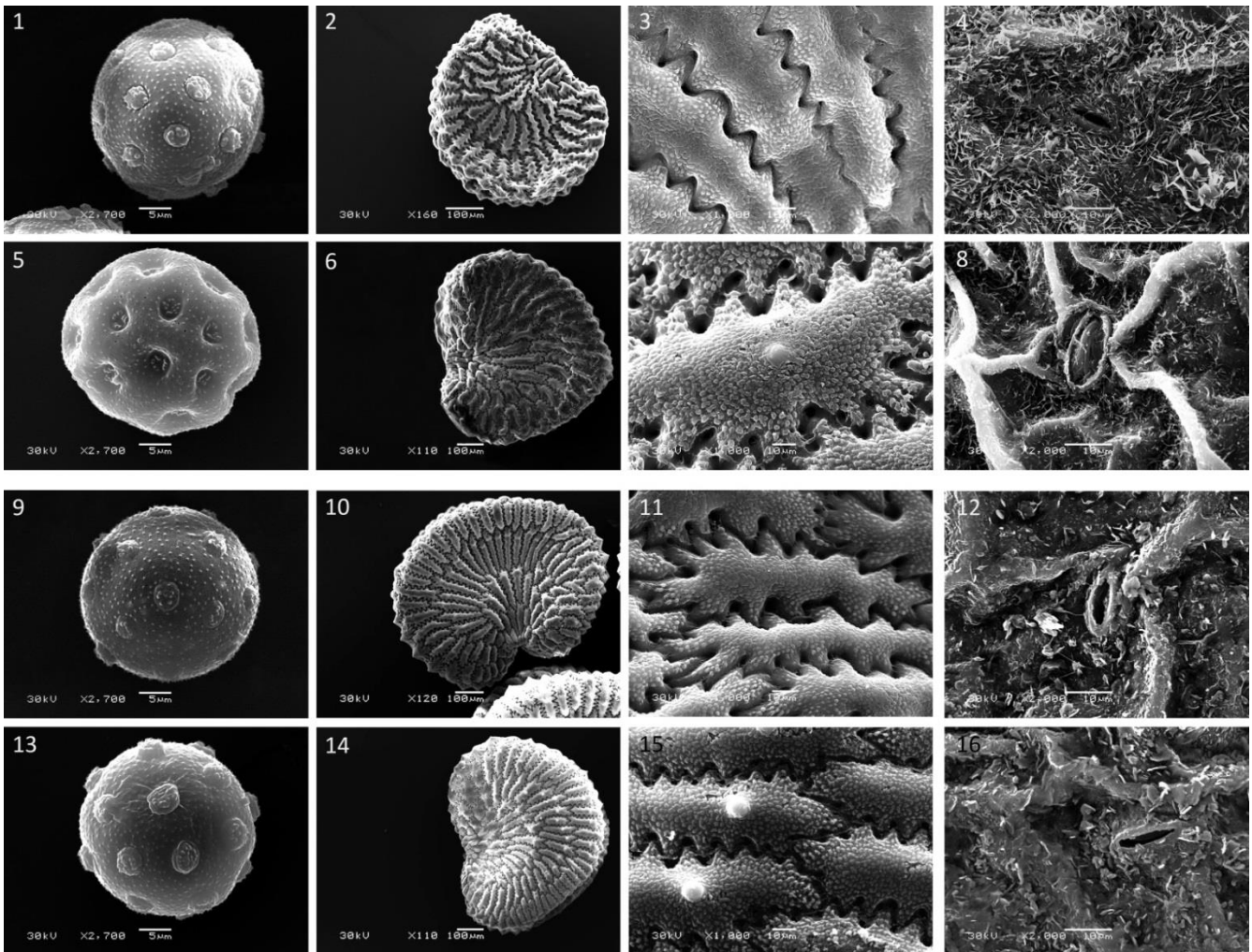


Рис. 3. Мікроморфологічні особливості двох пар критичних у систематичному відношенні видів – *Atocion lithuanicum* (1–4) / *A. armeria* (5–8) та *A. hypanicum* (9–12) / *A. compactum*, які свідчать про наявність відмін в межах обох пар. 1, 5, 9, 13 – пилкові зерна; 2, 6, 10, 14 – насінини; 3, 7, 11, 15 – клітини екзотести насінини; 4, 8, 12, 16 – породи адаксіальної поверхні листової пластинки

Отже, результати мікроморфологічних та молекулярно-генетичних досліджень підтверджують видову самостійність *A. lithuanicum*.

Аналіз SNP-сайтів послідовностей ITS1 та ITS2 гібриду між *A. lithuanicum* та *A. armeria*. Отримані нами сиквенси *A. lithuanicum* та *A. armeria* не містять сайтів з однонуклеотидним поліморфізмом (SNP), а отже є аналогами «чистих ліній». Тому зразки саме з цих популяцій були використанні для схрещування цих видів.

З проростків гібридного насіння отримано два ідентичних сиквенси ITS1-5,8S-ITS2. Ці послідовності мають SNP, що є комбінацією батьківських алелей, в усіх 13-ти сайтах, за якими розрізняються батьківські форми (рис. 4).

Показано, що включення сиквенсів, які містять SNP, призводить до формування дерева, що погано розв'язує філогенетичні взаємозв'язки. Проте видалення поліморфних сайтів призводить до втрати важливої інформації про таксони гібридогенного походження. В подібних випадках порівняльний аналіз вторинних структур послідовностей ITS1 та ITS2 дозволяє проаналізувати в тому числі й

сиквенси таксонів з SNP, які принаймні в деяких випадках можуть розглядатися як такі, що мають гібридогенне походження.

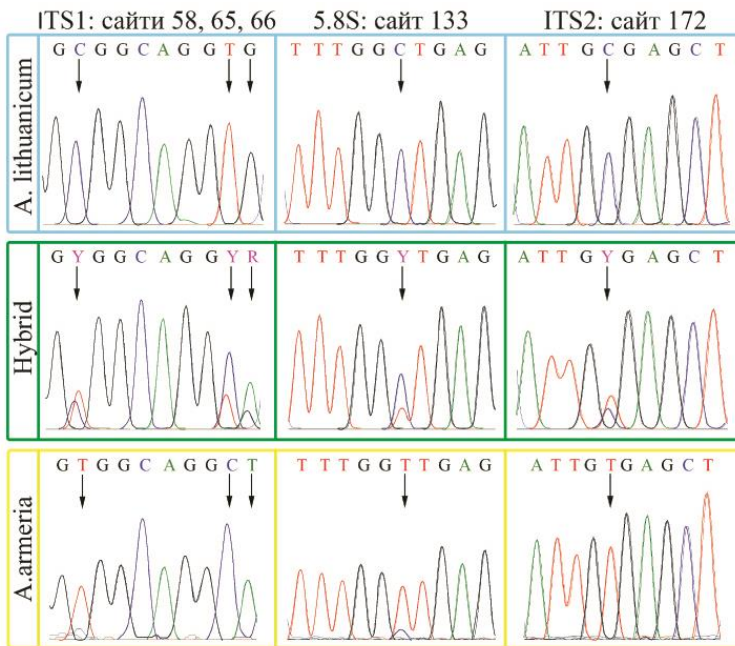


Рис. 4. Фрагменти хроматограм, що демонструють наявність SNP в послідовностях гібриду *A. lithuanicum* × *armeria* в сайтах, які диференціюють батьківські форми

***Atocion hupanicum*. Молекулярно-генетичний аналіз.** Для уточнення таксономічного статусу використовували отримані нами сиквенси (*A. hupanicum* KJ616753 та *A. compactum* KM975935) та імпортовані з GenBank (*A. compactum* FJ384028, FJ384029, FJ384030, FJ384031, FJ384032).

Як видно з рис. 5, *A. compactum* виявився гетерогенним видом, представленим щонайменше двома окремими таксономічними одиницями. Проте *A. hupanicum* відрізняється обох варіантів *A. compactum* наявністю заміни, що змінює вторинну структуру четвертої спіралі ITS1 (sst 210. C→G), і, таким чином, не може розглядатися як молодший синонім *A. compactum*.

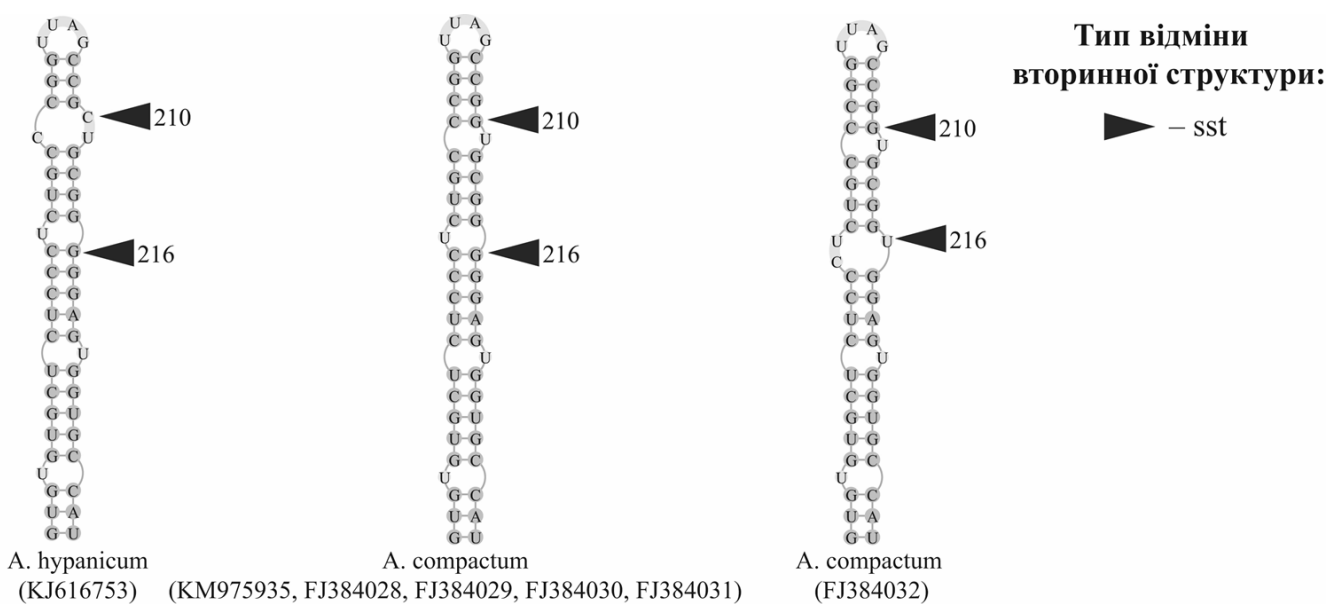


Рис. 5. Вторинна структура четвертої спіралі послідовності ITS1, що демонструє гетерогенність *A. compactum* та відокремленість від нього *A. hupanicum*

Мікроморфологічний аналіз. *A. huranicum* відрізняється від *A. comractum* особливостями пилкових зерен (відстанню між порами, кількістю шипиків на оперкулумі) та насінин (наявністю папіл) (див. рис. 3).

Таким чином, проведені мікроморфологічні та молекулярно-генетичні дослідження підтверджують видову самостійність *A. huranicum*.

***Silene sytnikii*.** Молекулярно-генетичний аналіз. Для з'ясування таксономічного статусу використовували отримані нами сиквенси (*S. sytnikii* MH329676, *S. chlorantha* MH333071, *S. frivaldszkyana* MH320790, MH333087) та імпортовані з GenBank (*S. frivaldszkyana* KP849852).

За ITS1 *S. sytnikii*, з одного боку, є подібним до *S. frivaldszkyana* (відрізняється наявністю лише одного SNP – 209.R). З іншого, він добре відрізняється від *S. chlorantha*, з яким його зближували на підставі морфологічної подібності. Відміни *S. sytnikii* від *S. chlorantha* численні, включають дві hCBC та sst в ITS1, hCBC та індель в ITS2, nst в послідовності 5,8S (рис. 6).

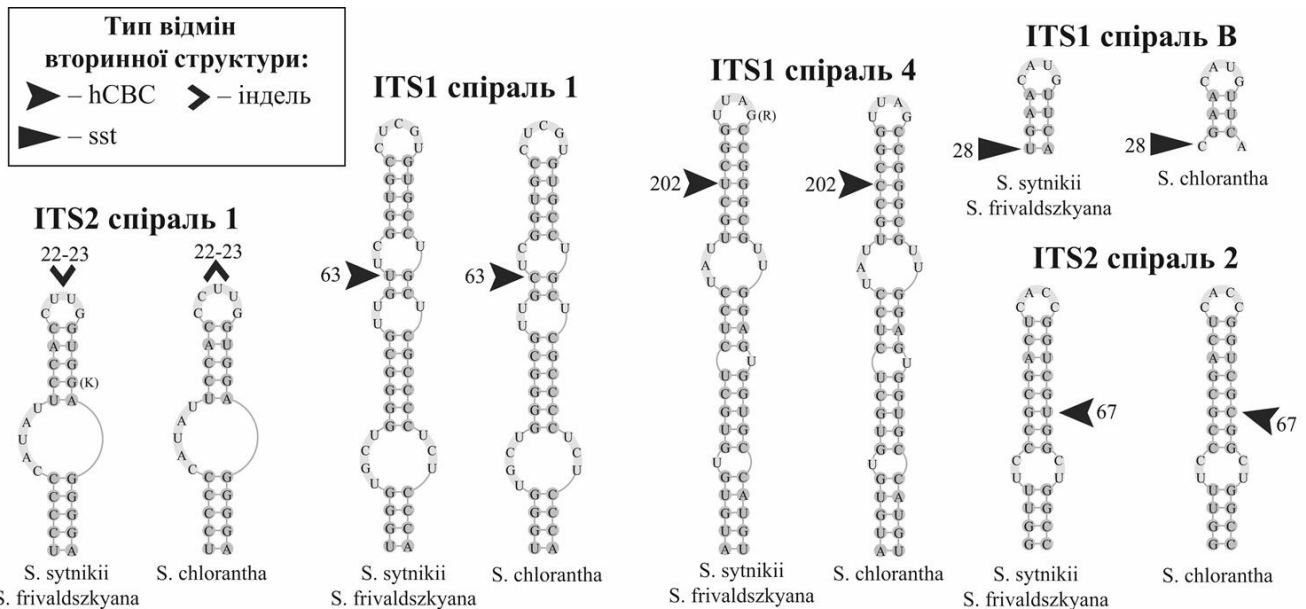


Рис. 6. Найбільш інформативні відміни вторинних структур спіралей послідовностей ITS1 та ITS2 *Silene sytnikii* та близьких до нього видів, що показують відокремленість *S. chlorantha* та відсутність суттєвих відмін між *S. sytnikii* та *S. frivaldszkyana*

Тобто, за результатами молекулярно-генетичного аналізу *S. sytnikii* суттєво не відрізняється від *S. frivaldszkyana*, натомість є відмінним від *S. chlorantha*.

Мікроморфологічний аналіз. За мікроморфологічними особливостями *S. sytnikii* є дуже близьким до *S. frivaldszkyana*, відміни між якими пов'язані лише з незначним варіюванням морфометричних показників. Натомість *S. chlorantha* добре відрізняється від *S. sytnikii* та *S. frivaldszkyana* дрібнішими насінинами, коротшими клітинами екзотести, довгими шипами по краю листкових пластинок та більшою кількістю пор пилкових зерен (рис. 7).

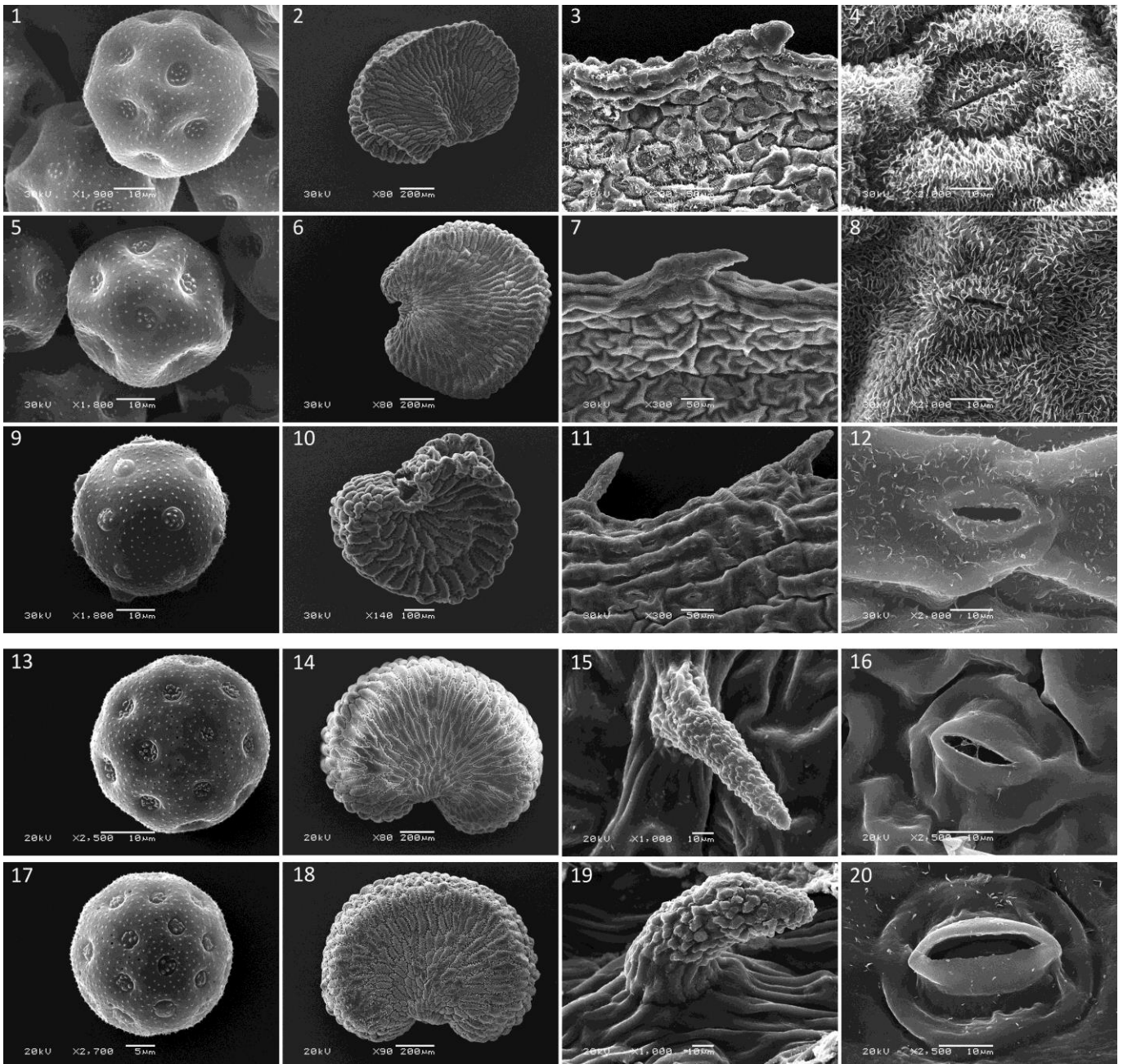


Рис. 7. Мікроморфологічні особливості двох груп критичних у систематичному відношенні видів. Група 1: *Silene sytnikii* (1–4) / *S. frivaldszkyana* (5–8) / *S. chlorantha* (9–12); група 2: *S. syreistschikowii* (13–16) / *S. supina* (17–20). В першій групі видно відсутність суттєвих відмін між *Silene sytnikii* (1–4) та *S. frivaldszkyana* та відміни *S. chlorantha* від обох цих видів; між видами другої групи відмін немає. 1, 5, 9, 13, 17 – пилокві зерна; 2, 6, 10, 14, 18 – насінина; 3, 7, 11, 15, 19 – трихому; 4, 8, 12, 16, 20 – продихи абаксіальної поверхні листкової пластинки.

Отже, молекулярно-генетичні та мікроморфологічні дані не підтверджують уявлень про те, що *S. sytnikii* є самостійним видом; відповідно, він має розглядатись як молодший синонім *S. frivaldszkyana*. Крім того, отримані дані свідчать, що *S. frivaldszkyana* s. l. не є близьким до *S. chlorantha* видом.

***Silene syreistschikowii*.** Молекулярно-генетичний аналіз. Для уточнення таксономічного статусу цього виду використовували отримані нами сиквенси (*S. syreistschikowii* MH341924, *S. supina* MH333090) та імпортовані з GenBank

(*S. supina* KX757459 та KX852691, *S. cappadocica* KX757457 та KX757458).

*S. syreistschikowii* відрізняється від зразку *S. supina* з Харківської обл. наявністю трьох SNP (102.R→G та 223.C→U у ITS1, 87.C→Y в ITS2), а від зразків *S. supina* з Болгарії (KX852691) та Туреччини (KX757459) – кількома SNP та однією nst у ITS1 (116.C→U). Ці відміни не є таксономічно значущими і не дозволяють розмежувати *S. syreistschikowii* та *S. supina*. Крім того, від них суттєво не відрізняються зразки *S. cappadocica*.

Мікроморфологічний аналіз. Суттєвих ознак, що розмежовують *S. syreistschikowii* та *S. supina*, не виявлено (див. рис. 7). Встановлено лише незначні морфометричні відмінності пилоквих зерен (діаметр пор, відстань між порами, діаметр перфорацій екзини), насінини (ширина клітин екзотести дистального ряду латеральної поверхні) та листових пластинок (довжина трихом; розмір продихів абаксіальної поверхні, ширина клітин епідерми адаксіальної поверхні).

Отже, суттєвих мікроморфологічних чи молекулярно-генетичних ознак, які б дозволили чітко розмежувати ці види не виявлено. Відповідно, *S. syreistschikowii* та *S. supina* представляють один вид, а назва *S. syreistschikowii* має вважатися молодшим синонімом *S. supina*.

### **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ РАРИТЕТНИХ ВИДІВ, ЯКІ НЕ Є КРИТИЧНИМИ В СИСТЕМАТИЧНОМУ ВІДНОШЕННІ**

*Silene zawadzki*. До порівняльного аналізу залучені сиквенси, близькі за результатами BLAST-аналізу до отриманої нами (MH333104) послідовності: *S. zawadzki* (KX757363, KX757364), *S. violascens* (Tolm.) Petrovsky et Elven (KX757343), *S. occidentalis* S. Watson (KX757349), *S. nigrescens* (Edgeworth) Majumdar (X86858) та *S. uralensis* (Ruprecht) Vocquet (KX757345, KX757342, AJ831784, AJ831781, KX757344, KX757346, AJ831785, KX757347).

Отримана нами послідовність є ідентичною до *S. zawadzki* KX757364 та відрізняється від іншого сиквенсу цього ж виду (KX75736) лише одним SNP (201.A→R) у послідовності ITS2. При цьому, сиквенси *S. zawadzki* суттєво відрізняються від сиквенсів інших досліджених видів наявністю sst (114.C→A) у послідовності ITS1, а також трьох hCBC (53.C–G→U–G, 65.G–U→G–C, 207.U–G→U–A) у послідовності ITS2.

Отже, *S. zawadzki* характеризується унікальними і досить суттєвими відмінностями порівняно з найбільш близькими до нього видами, що підтверджує його самостійний видовий статус.

*Silene cretacea*. До порівняльного аналізу залучені сиквенси, найбільш близькі до отриманого нами сиквенсу *S. cretacea* (MH340547) за результатами BLAST-пошуку (при цьому подібність не перевищувала 97,62%): *S. sibirica* (L.) Pers. (JX274521), *S. stenophylla* Ledeb. (KX757536), *S. leptoclada* Boiss. (KX757520, KX757517, KF267892), *S. esquamata* W.W. Smith (KX757528), *S. flavescens* Waldst. et Kit. (KX757516), *S. fissipetala* Turcz. (KX757529).

Показано, що *S. cretacea* суттєво відрізняється від наведених вище таксонів, а тому його самостійний видовий статус сумніву не підлягає. Ці види є різними за габітусом і відносяться до різних секцій роду *Silene*. Тобто, *S. cretacea* представляє

відсоблену філогенетичну групу, яка не демонструє близької спорідненості з жодним видом в системі підроду *Silene*.

***Silene jailensis*.** До аналізу залучені сиквенси, подібні до отриманої нами послідовності *S. jailensis* (MK084861): *S. brevistaminea* Gilli (EF060253, KX757443, KX757444), *S. gertraudiae* Melzh. (KX757454), *S. sisianica* Boiss. et Buhse (KX757448), а також *S. caryophylloides* Otth (KX757438), до якого на думку М. М. Цвельова (2004) може належати *S. jailensis*.

Найбільш подібними до *S. jailensis* є послідовності ITS2 трьох видів, поширених в Іранському нагір'ї та Закавказзі – *S. sisianica*, *S. brevistaminea* та *S. gertraudiae*. Від них *S. jailensis* відрізняється переважно лише за SNP (у *S. sisianica* є також одна заміна, що не змінює вторинну структуру ITS2 (nst 14.U→A). Ми вважаємо, що ці види близько споріднені, але остаточне заключення щодо статусу відмін *S. jailensis* від кожного з них потребує додаткових як мікроморфологічних, так і молекулярних досліджень *S. sisianica*, *S. brevistaminea* та *S. gertraudiae*, які на території України не зростають.

Від *S. caryophylloides* за послідовністю ITS2 *S. jailensis* за відрізняється суттєво – наявністю заміни (88. U→C), яка змінює вторинну структуру цієї послідовності. Відповідно, припущення М. М. Цвельова про те, що *S. jailensis* та *S. caryophylloides* є одним видом, не підтверджується.

***Silene viridiflora*.** До порівняльного аналізу залучені всі доступні сиквенси цього виду з GenBank (JX403428, JX403429, JX403431, JX403427, JX403430, DQ059414, KX757504, KX757566).

Зразки JX403429 з Туреччини та JX403428 з Франції виявилися ідентичними. Подібними між собою є також сиквенси з Греції KX757504 та JX403431, які відрізняються лише двома SNP. Найсуттєвіше від решти сиквенсів *S. viridiflora* відрізняються зразки з Болгарії JX403430 (hCBC 195.C–G→U–G та sst 109.G→U у ITS1), Румунії JX403427 (sst 174.G→A у ITS2) та культивару зі Швеції KX757566 (hCBC 195.C–G→U–G, дві sst 91.U→A, 109.G→U у ITS1; hCBC 160.G–C→G–U у ITS2). Зразок з Італії DQ059414 відрізняється наявністю sst (137.G→A) у 5,8S.

Тобто, за молекулярно-генетичними даними *S. viridiflora* є збірним таксоном і потребує критичного перегляду.

***Silene vulgaris*.** До порівняльного аналізу залучені отриманий нами сиквенс (MH333099) та імпортовані з GenBank послідовності цього виду (AY594309, AY857967, KJ918500, KJ918498, HE687365, HE602468, FN821149). Вісім досліджених сиквенсів представляють шість різних унікальних ITS-послідовностей; зразки HE687365 і HE602468 з Марокко та FN821149 з Іспанії є ідентичними, решта таксонів відрізняються між собою. Більшість відмін пов'язана з наявністю поліморфних сайтів, хоча таксони вибірки розрізняються також hCBC у послідовності ITS1 (136.G–U→G–C) та ITS2 (19.G–U→A–U).

Отриманий нами сиквенс з території України є найбільш подібним до зразків з Росії, менш подібними є зразки з Марокко, Іспанії, Швейцарії та Великобританії.

Таким чином, *S. vulgaris* має ознаки збірного виду і потребує додаткового вивчення із залученням зразків з різних частин ареалу.

## ПИТАННЯ ОХОРОНИ РАРИТЕТНИХ ТАКСОНІВ ТРИБИ *Sileneae* ФЛОРИ УКРАЇНИ

На підставі отриманих таксономічних даних в поєднанні з наявними в літературі матеріалами созологічного характеру обґрунтовуються заключення щодо необхідності охорони видів триби *Sileneae* флори України на національному, європейському та світовому рівнях.

Три види – *A. hypanicum*, *S. zawadzki* та *S. cretacea* – є локальними ендеміками, рідкісними як на території України, так і за її межами. Через це вони потребують включення як до Червоної книги України, так і до Європейського червоного списку та Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи.

Подібність молекулярно-генетичних даних *S. jailensis* до ряду видів з Іранського нагір'я та Закавказзя (*S. sisianica*, *S. brevistaminea* та *S. gertraudiae*) робить включення до Червоного списку Міжнародного союзу охорони природи передчасним, проте необхідність охорони цього виду на національному та Європейському рівнях сумнівів не викликає.

Три види (*A. lithuanicum*, *S. viridiflora* та *S. frivaldszkyana*) в Україні є рідкісними, проте досить звичайними в деяких інших європейських країнах. Так, рідкісний в Україні *A. lithuanicum* є звичайним видом для Польщі та Білорусі; раритетний для України *S. viridiflora* досить поширений у країнах Середземномор'я; *S. frivaldszkyana*, який в Україні відомий лише з кількох локалітетів, є звичайним видом Балканського півострова. Відповідно, ці види потребують охорони лише на державному рівні.

### ВИСНОВКИ

За результатами комплексного таксономічного аналізу встановлено раритетні види триби *Sileneae* DC. флори України, на підставі чого надано рекомендації про необхідний рівень їх охорони.

1. На основі молекулярно-філогенетичного аналізу проведено оцінку і верифікацію різних систем триби. Встановлено, що система *Sileneae* на найнижчих рівнях в цілому співпадає з класичними фенотипними системами М. М. Цвельова (2001) та М. М. Федончука (2016), проте, згідно проведеного нами аналізу, ранг більшості таксонів в них є дещо завищеним. Отримана топологія таксонів на рівні макроклад збігається з пропозиціями В. Охелман зі співавт. (2000).

2. Встановлено, що серед представників триби *Sileneae* флори України раритетними є сім видів, що належать до двох родів. З них до роду *Atocion* Adans. належать два види – *A. lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. та *A. hypanicum* (Klok.) Tzvel.; до роду *Silene* L. входять п'ять видів: з підроду *Behenantha* (Otth) Schur. – *S. zawadzki* Herbich., з підроду *Silene* L. – *S. viridiflora* L., *S. frivaldszkyana* Hampe, *S. cretacea* Fisch. ex Spreng та *S. jailensis* N. I. Rubtzov.

3. Результати дослідів зі схрещування *A. lithuanicum* та *A. armeria* (L.) Raf. показали, що сиквенси їх гібридів мають одонуклеотидні поліморфізми, які представляють комбінацію батьківських алелей. Відповідно, наявність поліморфних сайтів у послідовностях ITS1-5,8S-ITS2, принаймні у деяких випадках, може свідчити про гібридогенне походження таксону.

4. За результатами аналізу вторинних структур послідовностей ITS1 та ITS2, а також мікроморфологічних особливостей пилоквих зерен та насінин підтверджено самостійний видовий статус *A. hypanicum* та *A. lithuanicum*.

5. Самостійний видовий статус *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova та *S. syreitschikowii* P. Smirn. не підтверджено, оскільки як молекулярно-генетичний, так і мікроморфологічний аналізи показали відсутність суттєвих відмін *S. sytnikii* від *S. frivaldszkyana*, а *S. syreistschikowii* – від *S. supina* M. Bieb. Запропоновано розглядати *S. sytnikii* як молодший синонім *S. frivaldszkyana*, а *S. syreistschikowii* – як *S. supina*.

6. Молекулярно-генетичним аналізом підтверджено самостійний видовий статус *S. cretacea* та *S. zawadzki*. Показано, що *S. cretacea* представляє окрему філогенетичну групу, яка не демонструє близької спорідненості з жодним видом в системі підроду *Silene*. *Silene zawadzki* є сестринським до *S. viscosa* Pers. та розміщується в межах мікроклади «Elisanthe».

7. Встановлено, що *S. viridiflora* та *S. vulgaris* за послідовностями ITS1 та ITS2 є гетерогенними таксонами, які наразі мають розглядатися як збірні види, що потребують додаткового дослідження популяцій з територій інших країн.

8. Результати порівняльного аналізу вторинної структури послідовностей ITS2 показали спорідненість *S. jailensis* з групою видів, поширених в Іранському нагір'ї та Закавказзі (*S. brevistaminea* Gilli, *S. gertraudiae* Melzh. та *S. sisianica* Boiss. et Buhse). Спростовано уявлення про близькість *S. jailensis* до малоазійського *S. caryophylloides* (Poir.) Otth; згідно з результатами молекулярно-генетичного аналізу ці таксони є віддаленими.

9. На державному рівні пропонується охороняти *A. lithuanicum*, *A. hypanicum*, *S. zawadzki*, *S. cretacea*, *S. frivaldszkyana*, *S. jailensis* та *S. viridiflora*. До Європейського червоного списку пропонується включити *A. hypanicum*, *S. zawadzki*, *S. cretacea* та *S. jailensis*. Охорони на міжнародному рівні потребує *A. hypanicum*, *S. zawadzki* та *S. cretacea*.

## СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Статті в наукових періодичних іноземних виданнях, що входять до наукометричних баз даних:

1. Resolving the position of *Astragalus borysthenticus* Klokov within the *Astragalus* L. species / [N. Karpenko, V. Martyniuk, O. Tyshchenko et al.]. // Turk. J. Bot. – 2018. – Vol. 42, № 5. – P. 623–635. (Активна участь дисертанта в обробці даних, обговоренні результатів та написанні статті).

### Статті у фахових виданнях України, які входять до наукометричних баз даних:

2. Differences of *Atocion lithuanicum* from *A. armeria* and their hybrid (Sileneae, Caryophyllaceae) by ITS1-ITS2 sequences and secondary structure of their transcripts / V. O. Martyniuk, N. I. Karpenko, A. S. Tarieiev, I. Yu. Kostikov // Ukr. Bot. J. – 2018. – Vol. 75, № 4. – P. 322–334. (Дисертантом виконано експериментальну частину роботи та взято участь в обговоренні результатів досліджень).

### Статті у фахових наукових виданнях України:

3. Taxonomic status of *Atocion hypanicum* (Klokov) Tzvelev (Caryophyllaceae) inferred from analysis of ITS1 and ITS2 secondary structure / [V. O. Martyniuk, O. V. Tyshchenko, N. I. Karpenko et al.] // *Chornomors'k. bot. z.* – 2014. – Vol. 10, № 4. – P. 416–425. (Дисертантом проведено збір матеріалів, основна частина експериментальної роботи, участь в аналізі та обговоренні результатів, написанні статті).

4. Мартинюк В. О. Нарис історії таксономічного вивчення триби Sileneae DC. (Caryophyllaceae) / В. О. Мартинюк, Н. І. Карпенко // *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* – 2016. – Вип. 74. – С. 71–78. (Дисертантом проведено пошук та аналіз літературних даних, підготовку матеріалів до друку).

5. Мартинюк В. О. Молекулярно-філогенетичний аналіз раритетних видів триби Sileneae флори України / В. О. Мартинюк, Н. І. Карпенко, І. Ю. Костіков // *Наукові доповіді НУБіП України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія.* – 2018. – Т. 73, № 3. – URL:

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/dopovidi2018.03.002>.

(Дисертантом виконано основну частину експериментальної роботи, проаналізовано результати досліджень та літературні джерела).

### Статті в наукових періодичних виданнях України, які входять до наукометричних баз даних:

6. Мартинюк В. О. Деякі мікроморфологічні особливості *Atocion lithuanicum* (Zaral.) Tzvel. та *A. armeria* (L.) Raf. флори України / В. О. Мартинюк, Н. І. Карпенко, О. М. Царенко // *Біологічний вісник МДПУ імені Богдана Хмельницького.* – 2015. – Т. 5, № 1. – С. 8–23. (Дисертантом проведено планування, частково експериментальну роботу, аналіз результатів, написання статті).

7. Мартинюк В. О. Мікроморфологічні особливості пилкових зерен, насінин та листової поверхні *Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel. та *A. compactum* (Fisch.) Tzvel. / В. О. Мартинюк, Н. І. Карпенко, О. М. Царенко // *Modern Phytomorphology.* – 2015. – Т. 7. – С. 95–101. (Дисертантом проведено планування експерименту, частково експериментальну роботу, аналіз результатів, написання статті).

8. Мартинюк В. О. Мікроморфологічні особливості вузьколокального ендема *Silene sytnikii* (Caryophyllaceae) в порівнянні з близькими видами / В. О. Мартинюк, Н. І. Карпенко, О. М. Царенко // *Вісник Київського нац. ун-ту. Серія: Біологія.* – 2017. – Т. 73, № 1. – С. 25–31. (Дисертант брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів).

### Статті в інших наукових виданнях України:

9. Мартинюк В. О. Уведення в асептичну культуру рідкісної ендемічної рослини *Atocion lithuanicum* (Zaral.) Tzvel. / В. О. Мартинюк, А. В. Голубенко, Г. Б. Гуменюк. // *Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр.* – К.: Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова, 2014. – Т. 15. – С. 102–106. (Дисертант брала участь в експериментальній частині роботи та частково в аналізі і обговоренні результатів).

**Матеріали та тези наукових і науково-практичних конференцій:**

10. **Мартинюк В. О.** Загальновійськовий полігон військової частини А4152 (Рівненська область) як об'єкт для проведення ботанічних досліджень / **В. О. Мартинюк**, О. В. Тищенко // Актуальні проблеми ботаніки та екології: матер. міжнар. конф. молодих учених (19–23 вересня 2012 р.). – Ужгород, 2012 – С. 94–96.
11. **Мартинюк В. О.** Раритетні види роду *Silene* L. s. l. флори України / **В. О. Мартинюк**, О. В. Тищенко, Н. І. Карпенко // Шевченківська весна 2013: біологічні науки: матер. XI міжнар. наук. конф. студентів та молодих науковців (18–22 березня 2013 р.). – Київ, 2013. – С. 74.
12. Идентификация критических в систематическом отношении и раритетных таксонов флоры и микобиоты Украины молекулярно-генетическими методами / [А. С. Тареев, С. В. Скребовская, **В. А. Мартынюк** и др.] // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: матер. междунар. науч. конф. (25–29 марта 2013 р.). – Ростов-на-Дону, 2013. – С. 97.
13. To the question of *Silene hypanica* Klokov taxonomical status as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS1-ITS2 sequence data / **V. O. Martynyuk**, A. S. Tarieiev, O. V. Tyshchenko, N. I. Karpenko // Актуальні проблеми ботаніки та екології: матер. міжнар. конф. молодих учених (18–22 червня 2013 р.). – Щолкіне, 2013. – С. 109–110.
14. **Мартинюк В. О.** Рослинний світ південної частини Загальновійськового полігону військової частини А4152 (Рівненська область) / **В. О. Мартинюк**, О. В. Тищенко // Природа Полісся: дослідження та охорона: матер. міжнар. наук.-практ. конф. (3–5 липня 2014 р.). – Сарни–Рівне, 2014. – С. 355–360.
15. **Мартинюк В. О.** Морфологія насінин та проростків видів роду *Atocion* Adans. флори України / **В. О. Мартинюк**, Н. І. Карпенко, О. М. Царенко // Шевченківська весна: біологія-2015: матер. XIII міжнар. наук. конф. молодих науковців (1–3 квітня 2015 р.). – Київ, 2015. – С. 74.
16. **Мартинюк В. О.** Паліноморфологія видів роду *Atocion* Adans. флори України / **В. О. Мартинюк**, Н. І. Карпенко, О. М. Царенко // VI відкритий з'їзд фітобіологів Причорномор'я: збірка тез доповідей (19 травня 2015 р.). – Херсон, 2015. – С. 62–63.
17. To the question of the endemic *Atocion lithuanicum* (Zapał.) Tzvel. taxonomical status inferred from ITS2 secondary structure / [**V. Martynyuk**, N. Karpenko, O. Tyshchenko et al.] // Молодь і поступ біології: збірник тез XII міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів (19–21 квітня 2016 р.). – Львів, 2016. – С. 120–121.
18. Особливості вторинної структури ITS2-послідовності ендема Криму *Silene jailensis* N. Rubtz. / [**В. О. Мартинюк**, Н. І. Карпенко, О. В. Тищенко та ін.] // Актуальні проблеми ботаніки та екології: матер. міжнар. конф. молодих учених (22 червня – 3 липня 2016 р.). – Херсон, 2016. – С. 84.
19. **Мартынюк В. А.** Вторичная структура ITS2-последовательности *Silene sytnikii* (Caryophyllaceae) в сравнении с близкими видами / **В. А. Мартынюк**, Н. И. Карпенко, И. Ю. Костиков // Современные проблемы экспериментальной ботаники: матер. I междунар. научной конф. (27–29 сентября 2017 р.). – Минск, 2017. – С. 48–50.
20. **Мартинюк В. О.** Питання таксономічного статусу *Silene syreistschikowii*

(Caryophyllaceae) за результатами аналізу вторинних структур ITS1- та ITS2- послідовностей / **В. О. Мартинюк**, Н. І. Карпенко, І. Ю. Костіков // Рослинний світ у Червоній книзі України: впровадження Глобальної стратегії збереження рослин: матер. V міжнар. конф. (25–28 червня 2018 р.). – Херсон, 2018. – С. 58–61.

### АНОТАЦІЯ

**Мартинюк В. О. Молекулярна анотація раритетних видів триби Sileneae DC. флори України.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – ботаніка. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2018.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню раритетних таксонів триби Sileneae DC. флори України, їх філогенії та таксономії. Критично проаналізовано систему триби з застосуванням молекулярно-філогенетичного підходу. Проведено молекулярну анотацію раритетних таксонів, реконструкцію вторинних структур послідовностей ITS1, 5,8S та ITS2, а також порівняльний аналіз цих структур з такими близьких видів. Особливу увагу приділено спірним видам, для яких також проведено порівняльні мікоморфологічні дослідження пилкових зерен, насінин та поверхні листової пластинки. Встановлено, що серед представників триби Sileneae флори України раритетними є сім видів з двох родів: *Atocion* Adans. (*A. lithuanicum* (Zapał.) Tzvel., *A. hypanicum* (Klok.) Tzvel.) та *Silene* L. (subgen. *Behenantha* (Oth) Schur.: *S. zawadzki* Herbich.; subgen. *Silene*: *S. viridiflora* L., *S. frivaldszkyana* Hampe, *S. cretacea* Fisch. ex Spreng, *S. jailensis* N. Rubtz.). Не підтверджено статус *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova та *S. syreitschikowii* P. Smirn. як окремих видів; пропонується розглядати їх як молодші синоніми *S. frivaldszkyana* та *S. supina* M. Bieb., відповідно.

**Ключові слова:** *Silene* L., *Atocion* Adans., анотація, філогенія, гібридизація, ITS, сканувальна електронна мікроскопія, ендемік.

### АННОТАЦІЯ

**Мартинюк В. А. Молекулярная аннотация раритетных видов трибы Sileneae DC. флоры Украины.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.05 – ботаника. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2018.

Диссертационная работа посвящена исследованию раритетных таксонов трибы Sileneae DC. флоры Украины, их филогении и таксономии. Критически проанализировано систему трибы с применением молекулярно-филогенетического подхода. Проведено молекулярную аннотацию раритетных таксонов, реконструкцию вторичных структур последовательностей ITS1, 5,8S и ITS2, а также сравнительный анализ этих структур с таковыми близких видов. Особое внимание уделено спорным видам, для которых также проведены сравнительные микроморфологические исследования пыльцевых зерен, семян и поверхности листовой пластинки. Установлено, что в трибе Sileneae флоры Украины

раритетными являются семь видов из двух родов: *Atocion* Adans. (*A. lithuanicum* (Zapał.) Tzvel., *A. hypanicum* (Klok.) Tzvel.) и *Silene* L. (subgen. *Behenantha* (Otth) Schur.: *S. zawadzki* Herbich.; subgen. *Silene*: *S. viridiflora* L., *S. frivaldszkyana* Hampe, *S. cretacea* Fisch. ex Spreng, *S. jailensis* N. Rubtz.). Не подтверждено статус *S. sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova и *S. syreitschikowii* P. Smirn. как самостоятельных видов; предлагается рассматривать их в качестве младших синонимов *S. frivaldszkyana* и *S. supina* M. Bieb., соответственно.

**Ключевые слова:** *Silene* L., *Atocion* Adans., аннотация, филогения, гибридизация, ITS, сканирующая электронная микроскопия, эндемик.

## SUMMARY

**Martyniuk V.O. Molecular annotation of rare Sileneae DC. species in the Ukrainian flora.** – Manuscript.

Thesis for the degree of candidate of biological sciences: specialty 03.00.05 – botany. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2018.

Many Ukrainian rare species, including ones from Sileneae DC. tribe, have controversial taxonomic status and are considered as junior synonyms to morphologically similar, but widespread species. In many cases, a broad understanding of taxa could be explained by the complete absence of molecular data on rare Ukrainian species. Such treatment sometimes leads to their exclusion from conservation lists.

The thesis is devoted to the molecular analysis of nine rare Sileneae DC. taxa of the Ukrainian flora and to the ascertainment of their taxonomical status. 19 ITS1-5,8S-ITS2 rDNA sequences for 17 taxa of Sileneae tribe were obtained, for seven taxa – for the first time. Critical analysis of the tribe system with the use of molecular phylogenetic approach was carried out. Using molecular markers ITS1 and ITS2, molecular annotations of rare species were conducted, secondary structure models were reconstructed and compared to ones of the related taxa. Particular attention is paid to species with controversial taxonomic status – *Atocion hypanicum* (Klok.) Tzvel., *A. lithuanicum* (Zapał.) Tzvel., *Silene sytnikii* Krytzka, Novosad et Protopopova, and *S. syreitschikowii* P. Smirn. Besides molecular genetic data, micromorphological traits of pollen grains, seeds, and leaf surface structure were studied for these controversial taxa using light and scanning electron microscopy in comparison with closely related species.

Based on the phylogenetic analysis, assessment and verification of different Sileneae systems were conducted. It was shown that topology of the tree on genera level (macroclades) in general coincides with the system of Oxelman et al. (2000) and includes five macroclades – *Atocion*, *Viscaria*, *Heliosperma*, *Lychnis*, and *Silene*. Also, in most cases, our phylogenetic tree at lower levels (subclades) matches morphological systems (Klokov, 1952; Tzvelev, 2001; Fedoronchuk, 2016), but taxonomic rank for some groups in those systems are overestimated.

CBC, hCBC, sst and nst differences in secondary structures of ITS sequences were used for the rank assessment of the investigated taxa. However, regarding the presence of polymorphic sites that can sometimes be considered as SNPs, unambiguous taxonomic interpretations have not been developed yet. SNPs can be considered as markers of hybrids, taxa with a hybrid origin, closely related species, or as different populations

within the same species. In order to clarify the status of operational taxonomic units (OTU), which differ only by the presence of SNP, experimental crossing between the representatives of the tribe, in particular between *A. lithuanicum* and *A. armeria*, was carried out. It was found that SNPs, in this case, represent a combination of parental alleles and therefore can be considered as hybridization markers. Thus, within the investigated group of taxa SNPs in ITS1-5.8S-ITS2 may be considered as markers of the hybrid origin of the taxa.

It was found that the tribe Sileneae in the Ukrainian flora includes seven, but not nine, rare species which belong to two genera. The genus *Atocion* Adans. includes two species – *A. lithuanicum* and *A. hypanicum*. The genus *Silene* L. includes five rare species that belong to two subgenera: *Behenantha* (Oth) Schur. (*S. zawadzki* Herbich.) and *Silene* (*S. viridiflora* L., *S. sytnikii*, *S. cretacea* Fisch. ex Spreng, *S. jailensis* N. I. Rubtzov).

On the basis of SEM studies, as well as ITS1 and ITS2 secondary structure analysis, it was shown that *A. lithuanicum* clearly differs from closely related *A. armeria* and therefore should be considered as separate species. Similarly, *A. hypanicum* and *A. compactum* have differences; thus *A. hypanicum* could not be considered as a junior synonym of *A. compactum*. Also, it was shown that endemic species *S. cretacea* and *S. zawadzki* clearly differ from related taxa in ITS1 and ITS2 secondary structure. Thus, their status as separate unique species was confirmed.

Separate species status was not confirmed for *S. sytnikii* and *S. syreistschikowii*. *S. sytnikii* should be treated as junior synonym *S. frivaldszkyana*, *S. syreistschikowii* – as a junior synonym of *S. supina*.

*Silene vulgaris* and *S. viridiflora* was shown to be a group of species. Thus, to clarify their taxonomic status additional investigation including samples from different countries has to be included. It was shown that *S. jailensis* is closely related to *S. brevistaminea* and *S. sisianica*, but to ascertain the taxonomic status of Ukrainian species additional investigations have to be conducted.

**Keywords:** *Silene* L., *Atocion* Adans., annotation, phylogeny, annotation, ITS, scanning electron microscopy, endemic species.