

Сведения о выполненных работах
в период с 01.07.2021 г. по 30.06.2022 г.

по проекту «**Биосистематика и эволюция модельных таксонов
семейства *Ranunculaceae***»,
поддержанному Российским научным фондом

Соглашение № 19-74-10082

Руководитель: канд. биол. наук Эрст Андрей Сергеевич

В результате выполненных за отчетный период работ в нашем распоряжении имеются высококачественные гербарные и живые материалы, образцы для выделения ДНК, собранные на популяционном уровне и из разных точек ареалов изучаемых таксонов. Для выявления криптических видов, гибридогенных таксонов особое внимание уделялось сбору материалов из крайних точек ареала и смешанных популяций. Показано, что при наличии морфологического сходства растений из локальных популяций на протяжении широкого разорванного ареала *Eranthis*, характер опушения цветоносов в сочетании с некоторыми другими морфологическими параметрами, биохимическим составом, особенностями кариотипа и топологией образцов на филогенетических деревьях демонстрирует наличие криптических видов и гибридогенных таксонов. Несмотря на то, что построена филогения по всем популяциям, в первую очередь, необходимо решение номенклатурных вопросов, выявление морфологических различий в пределах спорных популяций и видов с неясным таксономическим статусом, получение биохимических и цитогенетических данных, которые выполнены частично. В пределах группы европейских видов выделяется 2 крупных клады с 5 подкладами, выявлен 1 подтвержденный криптический вид, требующий описания. Несмотря на отсутствие пересечения ареалов *Eranthis hyemalis* и *E. cilicica* требуется проверка наличия гибридогенных таксонов. Комплексный анализ азиатской группы белоцветковых Весенников указал на большее количество существующих видов, чем предполагалось ранее. В пределах азиатской группы выделяются 2 крупных клады с 8 подкладами. Но для более детального изучения требуется завершение нескольких блоков работ и включение всех сортов в анализ.

В результате проведены ревизии таксономического разнообразия семейства *Ranunculaceae* для ряда труднодоступных регионов Азии. Результаты работы опубликованы в виде 3 научных статей в журналах *PhytoKeys* (Q2, IF – 1.635) и *Phytotaxa* (Q3, IF – 1.171).

В последние десятилетия накоплен огромный массив филогенетической информации, реконструированы основные ветви в группе Лютикоцветных, такой прогресс не оценим. Несмотря на это, многие части древа до сих пор не проработаны. Это связано с отсутствием полного набора видов, наличием процессов гибридизации, сетчатой эволюции и адаптивной радиации. Неразрешенные вопросы возникают в таксонах, которые претерпели взрывообразную адаптивную радиацию, связанную с быстрым видообразованием за короткие промежутки времени. Разрешение сложных

вопросов фундаментальной биологии вполне возможно при использовании геномных методов секвенирования следующего поколения (NGS). Результаты анализа полных хлоропластных геномов *Thalictrum* методом секвенирования нового поколения предоставили обширную информацию для будущей видовой идентификации, филогенетических, филогеографических и популяционных исследований рода. Полученные филогенетические деревья, основанные на полных последовательностях хлоропластных геномов, на 116 межгенных спейсерных участках и на последовательностях 114 генов, показали, что внутри *Thalictrum* выделяются две основные клады. Ни одна из секций, традиционно относимых к этому роду, не является монофилетической. Филогенетические деревья показывают, что 116 межгенных спейсерных участков дают более сильную поддержку, чем последовательности 114 генов. Некодирующие участки (интроны и спейсеры) являются более изменчивыми молекулярными маркерами. Сравнение 11 пластов выявило не только большое сходство в общей структуре генома, порядке и наборе генов, но также и некоторые структурные вариации, вызванные расширением или укорочением инвертированных повторов за счёт соседних однокопийных областей. Анализ дивергенции последовательностей ДНК в пластах одиннадцати видов *Thalictrum* показал, что участки *infA-rps8*, *ccsA-ndhD*, *trnSUGA-psbZ*, *trnHGUG-psbA*, *rpl16-rps3*, *ndhG-ndhI*, *ndhD-psaC* и *ndhJ-ndhK* относятся к числу быстро эволюционирующих локусов и перспективных молекулярных маркеров и эти высоко изменчивые локусы должны использоваться в филогенетических исследованиях. Среди 79 пластовых кодирующих последовательностей (CDS), 15 генов были идентифицированы как быстро эволюционирующие, которые подвержены положительному отбору и показывают разные предпочтения в частоте использования кодонов. Результаты работы опубликованы в журнале *Frontiers in Plant Science* (Q1, IF – 5.75).

Цитогенетический анализ для ряда представителей сем. *Ranunculaceae* проводился по следующим направлениям: сравнительный анализ хромосомных наборов (кариотипов), локализация последовательностей 45S и 5S рибосомальной ДНК (рДНК) на хромосомах при помощи флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с олигонуклеотидными ДНК-зондами, определение содержания ДНК в ядре (размер генома, C-value) при помощи проточной цитометрии. Исследованы образцы девяти видов р. *Eranthis* из разных частей ареалов. Показано, что для них характерен выраженный межвидовой полиморфизм по основным кариометрическим параметрам и по локализации консервативных молекулярно-цитогенетических маркеров – 45S и 5S рДНК. На основании размеров, морфологии хромосом, числа и размеров блоков рДНК можно четко идентифицировать пары хромосом у большинства диплоидных видов. Выявлена положительная корреляция между числом бэндов 5S рДНК и размером генома. Для некоторых видов установлено наличие внутривидового полиморфизма по некоторым параметрам кариотипа, природа которой требует дальнейшего детального исследования. Предположено, что в основе эволюции кариотипов *Eranthis* ключевую роль играли хромосомные перестройки, полиплоидия и изменение числа повторяющихся последовательностей, в том числе рибосомальных генов. Сравнительное исследование кариотипов проведено также для

Halerpestes sarmentosa и *H. salsuginosa*, произрастающих в России. Показаны различия данных видов по кариоморфологическим параметрам. По результатам опубликована статья в журнале *PhytoKeys* (Q2, IF – 1.635).

Впервые исследован метаболомный профиль водно-этанольных экстрактов из листьев *Eranthis longistipitata*. Анализ химических соединений проведен методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения на современном высокоточном оборудовании. Получены данные по составу общего метаболитного пула листьев *Eranthis longistipitata* (более 160 соединений, из которых 72 определены до класса и 58 до индивидуального соединения), отмечено наличие фурохромонов и кумаринов, уточнены данные по составу флавоноидной составляющей профиля. Отработанная методика идентификации веществ в листьях *Eranthis longistipitata* позволит провести дальнейшее фитохимическое и хемотаксономическое изучение видов растений рода *Eranthis*. Изучен также комплекс флавоноидов у некоторых представителей рода *Eranthis*. Однако наибольший интерес вызывают хромоны, обнаруженные у растений этого рода, а также другая группа производных бензо- α -пирона – кумарины. Ограниченное распространение хромонов и кумаринов и их фармакологическая активность вызывают интерес. Например, кумарины, обнаруженные у *E. longistipitata*, проявляют антиоксидантную, противоопухолевую, антиапоптотическую активность. Производные хромона оказывают противовоспалительное, противовирусное, противоопухолевое и спазмолитическое действие, и используются как антиоксиданты. Кроме того, благодаря их фотохимическим свойствам, они могут применяться как флуоресцентные метки в биохимических экспериментах и клинической медицине. Исследование видов растений с содержанием, ограниченно распространённых в растительном мире, хромонов и кумаринов, даст возможность получить новые источники полезных фармакологически активных веществ. Полученные результаты также могут внести вклад в изучение таксономии семейства Лютиковых, поскольку по фитохимическим особенностям *Eranthis* более близок к роду *Actae*, у которых также в процессе жизнедеятельности синтезируются хромоны. Результаты работы опубликованы в виде 2 научных статей в журналах *International Journal of Molecular Sciences* (Q1, IF – 5.92) и *Plants-Basel* (Q1, IF – 3.94).