



УДК 575.8:581.961

ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА НЕДАВНО ДИВЕРГИРОВАВШИХ ГРУПП НА ПРИМЕРЕ РОДА *ROSA*

И.А. Шанцер

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Ботаническая ул., 4, Москва 127276, Россия;
e-mail: ischanzer@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Разграничение видов и установление их родства в эволюционно молодых группах растений часто оказывается весьма затруднительным. На морфологическом уровне это связано с незначительностью межвидовых различий, параллельной изменчивостью и возможной гибридизацией; на генетическом – с той же гибридизацией, анцестральным полиморфизмом и неполной сортировкой, или, иначе, неполным расхождением линий. Одним из наиболее ярких примеров этого может быть род *Rosa*, в котором все перечисленные выше проблемы наблюдаются одновременно. Методы традиционной систематики, равно как и молекулярной кладики, оказываются мало пригодными для анализа таких групп. В статье обсуждается использование генеалогий ядерных и хлоропластных гаплотипов для выявления структуры и родственных отношений в роде *Rosa* и сходных группах. Анализ генеалогий последовательностей ядерных *ITS1* и хлоропластных *trnL-trnF* позволяет с разной степенью детализации выявить от 6 до 9 групп родства *Rosa*, в значительной степени совпадающих и географически очерченных, однако лишь отчасти соответствующих традиционно принимаемому секционному делению рода.

Ключевые слова: филогения, генеалогия, гибридизация, неполная сортировка/расхождение филогенетических линий, *ITS1*, *trnL-trnF*, *Rosa*

PHYLOGENY AND TAXONOMY OF RECENTLY DIVERGED GROUPS AS EXEMPLIFIED BY THE GENUS *ROSA*

I.A. Schanzer

N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya Str., 4, Moscow, Russia;
e-mail: ischanzer@mail.ru

ABSTRACT

Delimitation of species and establishing their relations in evolutionary young groups often proves to be an uneasy task. In morphological terms this means weak interspecific differentiation, parallel variability, and probable hybrid origin of intermediates. In genetical terms this means the effects of already mentioned hybridization, ancestral polymorphism and incomplete lineage sorting. The genus *Rosa* may serve as one of the brightest examples of a group where all the mentioned problems occur simultaneously. Such a group appears to be pretty resistant to methods of both traditional taxonomy and molecular cladistics. The use of nuclear and chloroplast haplotype genealogies to reveal the internal structure and phylogenetic relationships in *Rosa* and similar groups are discussed in the paper. Analyses of nr (*ITS1*) and cp (*trnL-trnF*) genealogies enables to reveal with various detail 6 to 9 groups of closely interrelated *Rosa* species, to much extent coinciding with each other and definite geographically, however, only partly corresponding to traditional sections.

Key words: phylogeny, genealogy, hybridization, incomplete lineage sorting, *ITS1*, *trnL-trnF*, *Rosa*

ВВЕДЕНИЕ

Современные методы реконструкции филогений основываются на различных компьютерных алгоритмах, разработанных в рамках кладистики и нумерической систематики. Общим для них всех является конечный продукт – дерево, т.е. древовидный граф, в котором все исследуемые единицы (операциональные кладистические единицы) располагаются на концах ветвей, а внутренние узлы соответствуют гипотетическим предкам или гипотетическим событиям видообразования. При использовании для анализа данных первичной структуры ДНК принято различать «деревья генов» и «деревья таксонов» (Doyle 1992; Page and Charleston 1997; Шнеер 2005). Между ними могут быть различные, в том числе и довольно значительные несовпадения, так как в процессе эволюции мутационные изменения, накапливающиеся в ДНК, происходят не одновременно с событиями видообразования. Особенно характерно это для недавно дивергировавших групп, а также групп, видообразование в которых сопровождалось быстрой адаптивной радиацией (Rosenberg and Nordborg 2002).

В последние два десятилетия активное развитие получили альтернативные построению деревьев методы построения филогенетических и генеалогических сетей (Avise et al. 1987; Crandall and Templeton 1993; Bandelt et al. 1999; Posada and Crandall 2001; Cassens et al. 2003; Huson and Bryant 2006). Главным отличием сетей от деревьев является то, что исследуемые операциональные единицы (типы последовательностей ДНК, или гаплотипы, или аллели; реже – организмы или таксоны) в сетях могут располагаться не только на концах ветвей, но и во внутренних узлах, а мультифуркации и замкнутые петли не только являются допустимыми, но и могут быть содержательно интерпретированы. Теоретическим обоснованием большинства этих методов (за исключением сплитграфов) служит разрабатываемая с 80х годов XX века теория коалесценции (Kingman 1982, 2000; Hudson 1991; Hein et al. 2005) – область популяционной генетики, математически описывающая процесс исторического происхождения аллелей. Не вдаваясь в математические подробности, которые изложены во множестве специальных публикаций, развиваемые этой теорией подходы и основные выводы можно изложить следующим образом.

Теория коалесценции рассматривает в качестве стандартной модели стабильную по численности диплоидную популяцию, обладающую набором нейтральных, т.е. не подверженных действию отбора, и не рекомбинирующих аллелей. Каждая особь популяции имеет двух предков, но каждая аллель возникла в результате репликации только одной молекулы ДНК. Рассматривая судьбу аллелей в ретроспективе, мы обнаруживаем, что все они происходят некоторое число поколений назад от ближайшего общего предка, т.е. от одной предковой молекулы ДНК. В этом нет ничего парадоксального – такой вывод является прямым следствием дрейфа генов в ограниченной по численности популяции. Принято говорить, что все аллели данной популяции коалесцируют к ближайшему общему предку, а сам процесс такого «схождения» называется коалесценцией. Теоретически показано, что для такой идеальной популяции время коалесценции, измеряемое числом поколений, равно удвоенной величине эффективной численности и никак не связано со скоростью мутирования. Таким образом, для гаплоидных организмов, а также для генов хлоропластного и митохондриального геномов время коалесценции оказывается в четыре раза меньшим, чем для аутосомных генов диплоидов. Параметры коалесценции, оцениваемые рядом статистик, могут быть определены по данным изменчивости последовательностей ДНК. Различные их отклонения от теоретически предсказанного распределения для стандартной модели могут быть интерпретированы как следствие событий, происходивших в прошлом данной популяции, таких как значительные изменения численности, миграции, рекомбинация и т.д.

Однако однозначно реконструировать эти генеалогические связи невозможно, т.к. аллели разных организмов ничем не отличаются друг от друга и возможно бесконечное число генеалогий, которые можно только моделировать, но не реконструировать. Возможность реконструкции появляется только тогда, когда между аллелями возникают различия в результате мутаций, случившихся в более или менее отдаленном прошлом. При этом, фактически, мы реконструируем не структуру коалесцента, как таковую, а лишь генеалогические связи мутантных аллелей. Последние, однако, могут не совпадать с филогенетическими связями таксонов или популяций одного вида, так как дивергенция популяций и видов происходит не одновременно с мутациями ДНК.

Принципиальным отличием этого подхода от традиционных кладистических методов является развитие представлений о возможности одновременного сосуществования в популяциях предковых и производных последовательностей ДНК (гаплотипов). Это служит обоснованием полной естественности поли- и парафилетических отношений, по крайней мере, на внутривидовом уровне. Выявляемая по молекулярно-генетическим данным монофилия каких-либо групп всегда является следствием длительной изоляции, приведшей к вымиранию всех предковых гаплотипов. Представления, развитые в рамках теории коалесценции, наиболее широко применяются в филогеографии при построении и интерпретации внутривидовых генеалогий гаплотипов (Avice et al. 1987; Crandall and Templeton 1993). Однако рядом исследователей была обоснована возможность использования разработанных в рамках теории коалесценции и филогеографии подходов и на надвидовом уровне (Templeton 2001; Degnan and Rosenberg 2009). При этом возникает возможность исследовать ситуации, связанные с неполной сортировкой, или, иначе, неполным расхождением (Абрамсон, 2007) генеалогических линий (incomplete lineage sorting) и межвидовой гибридизацией в группах близких видов, не поддающиеся расшифровке в рамках чисто кладистических подходов. Сказанное можно схематично проиллюстрировать на вымышленном примере, показанном на рис. 1.

В последнее время методы построения сетей, отражающих генеалогические связи хлоропластных гаплотипов, успешно используются для установления видовых границ и расшифровки филогений, в том числе и сетчатых, комплексов близких видов в различных таксономических группах растений. Методы построения сетей были успешно использованы для реконструкции филогении большого рода *Hordeum* L. (Jakob and Blattner 2006), подрода *Melanocrommyum* (Webb & Berth.) Rouy рода *Allium* L. (Gurushidze et al. 2010), а также североамериканских представителей секции *Cinnamomeae* (DC.) Ser. рода *Rosa* L. (Joly et al. 2006). Во всех трех группах широко представлены межвидовая гибридизация и быстрая адаптивная радиация молодых видов, сочетающаяся с неполной сортировкой генеалогических линий. В цитированных работах использовался метод статистической парсимонии, считающийся одним из

наименее подверженных ошибкам (Cassens et al. 2003; Woolley et al. 2008).

Вместе с тем, попытка применить такой подход к анализу всего рода *Rosa* в целом, с акцентом на наиболее таксономически сложной и гибридогенной по своему происхождению секции *Caninae* (DC.) Ser. (Ritz et al. 2005) дала не вполне однозначные результаты и позволила авторам сделать лишь достаточно тривиальные выводы, подтверждающие гибридное происхождение секции. Следует отметить, что род *Rosa* представляет собой одну из наиболее сложных в таксономическом отношении групп цветковых растений, в систематике которой до настоящего времени не сложилось стабильного представления ни о секционном делении рода, ни даже об общем числе входящих в него видов (Шанцер 2001). Традиционная, основанная на морфологических признаках, систематика делит род *Rosa* на 4 подрода, иногда признаваемых даже в ранге отдельных родов. Три из них (*Hulthemia* (Dumort.) Focke, *Platyrhodon* (Hurst) Rehder и *Hesperhodos* Cockerell) являются моноили олиготипными и включают ряд наиболее сильно морфологически уклоняющихся форм. К четвертому подроду (*Rosa*) относится основная масса видов; традиционно его подразделяют на 9–18 секций, состав и число видов в которых варьирует в понимании разных авторов. Имеющиеся молекулярно-генетические данные указывают на то, что в роде *Rosa* широко распространены как неполная сортировка генеалогических линий, так и гибридогенное происхождение многочисленных полиплоидных видов. Эти данные указывают на относительно молодость большинства видов, хотя в ископаемом состоянии наиболее ранние находки листьев роз известны из эоцена Северной Америки (Becker 1963). Исследования по молекулярной филогении этого рода, выполненные с использованием как ядерных (*ITS1*), так и хлоропластных (Matsumoto et al. 2000, 2001; Ritz and Wissemann 2003; Bruneau et al. 2007; Wu et al. 2001) маркеров дали крайне противоречивую картину. Полученные деревья оказались плохо разрешенными, с низкой поддержкой большинства узлов и различающимися по топологии. Но, самое главное, выявляемые на них группировки таксонов не соответствуют ни традиционному, основанному на морфологических признаках, секционному делению, ни географическому распространению видов. Использование AFLP

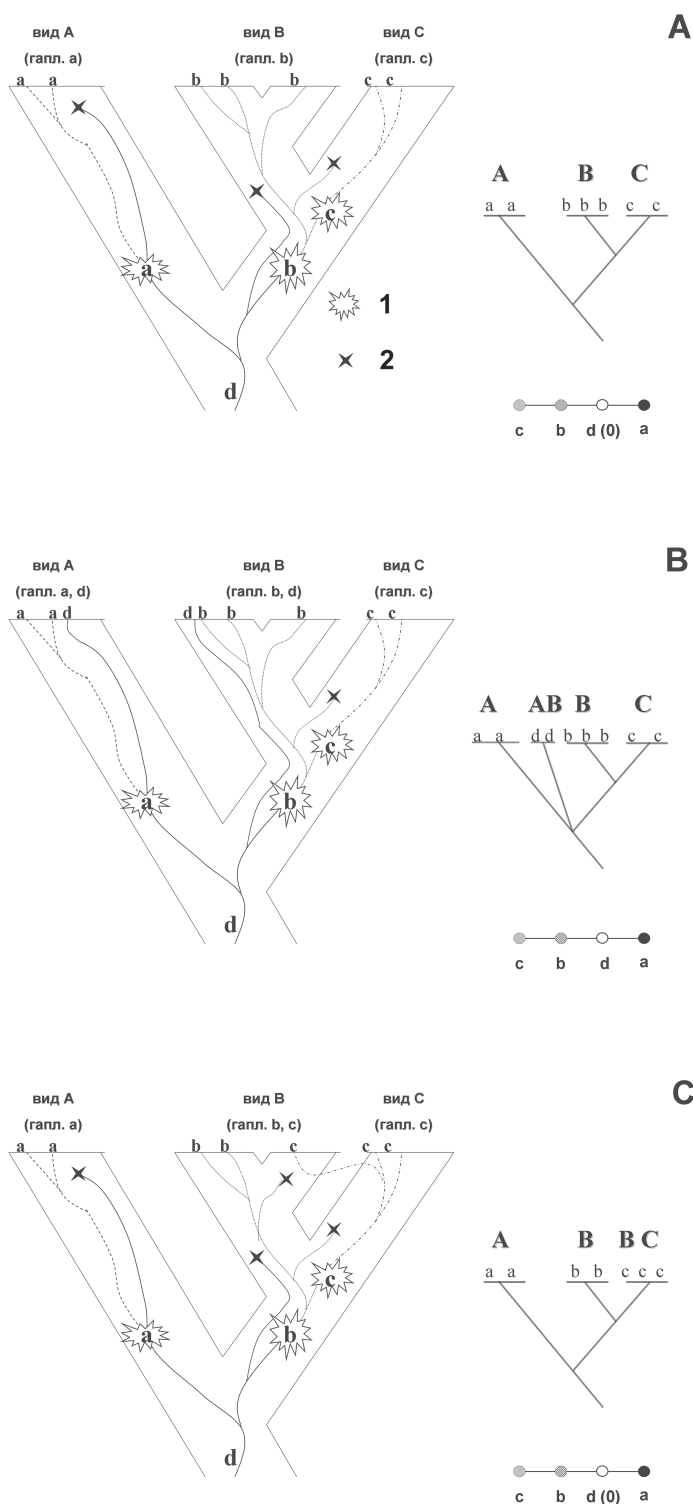


Рис. 1. Филогения и ее реконструкция по ДНК в виде дерева и генеалогической сети: 1 – мутационное событие; 2 – событие вымирания линии.

A – Носители предкового гаплотипа d вымерли: виды A, B и C представляют собой конечные монофилетические группы;

B – Носители предкового гаплотипа d НЕ вымерли: виды A и B парафилетичны вследствие неполной сортировки (неполного расхождения) филогенетических линий;

C – Носители предкового гаплотипа d вымерли, однако виды B и C парафилетичны, вследствие замещения гаплотипа b гаплотипом c в одной из популяций вида B в результате гибридизации с видом C.

Fig. 1. Phylogeny and its reconstructions from DNA as a tree and as a haplotype network:

1 – mutation event; 2 – lineage extinction event.

A – Ancestral haplotype d is extinct: species A, B, and C are terminal monophyletic groups;

B – Ancestral haplotype d is NOT extinct: species A and B are paraphyletic due to incomplete lineage sorting;

C – Ancestral haplotype d is extinct, however species B and C are paraphyletic due to replacement of haplotype b with haplotype c in one of the populations of species B as a result of hybridization with species C.

маркеров (Koopman et al. 2008) дало столь же противоречивый и противоречащий традиционной систематике рода результат, сколько-нибудь детальное обсуждение которого выходит далеко за рамки настоящей статьи. В целом, большинство авторов делает неутешительный вывод о том, что на данном этапе сколько-нибудь однозначное установление состава секций и их родства невозможно. Причиной тому являются, главным образом, многочисленные гибридизационные события в ходе предшествовавшей эволюции рода *Rosa*.

Целью настоящей работы является попытка сравнительного анализа генеалогий гаплотипов ядерных и хлоропластных последовательностей *Rosa* и оценка степени осмысленности полученных результатов с таксономической и ботанико-географической точек зрения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Благодаря филогенетическим исследованиям, проведенным за последние 10–15 лет разными группами исследователей в разных странах (Eriksson et al. 1998; Helfgott et al. 2000; Iwata et al. 2000; McNutt et al. 2007; Khaitova et al. 2010; Kovarik et al. 2008; Matsumoto et al. 2000, 2001; Wu et al. 2001; Ritz and Wissemann 2003; Ritz et al. 2005; Bruneau et al. 2007; Potter et al., 2007), был накоплен большой массив данных по последовательностям ДНК видов *Rosa*. Эти данные хранятся в открытом доступе в международной базе данных GenBank и доступны для изучения, что создает возможность использования всего массива накопленной информации для переоценки существующих представлений о филогении *Rosa*.

В анализ также были включены последовательности ДНК, секвенированные в ходе выполнения настоящей работы. Это последовательности ядерного внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальной ДНК *ITS1* из *R. majalis* Herrm. s.l. (43 образца, включая *R. majalis* s.str., *R. glabrifolia* C.A. Mey. ex Rupr., *R. pratorum* Sukacz., *R. gorinkensis* Fisch. ex Spreng.), *R. acicularis* Lindl. (1), *R. amblyotis* C.A. Mey. (1) и *R. villosa* L. (1); а также хлоропластного межгенного спейсера *trnL-trnF* из *R. majalis* s.l. (27 образцов), *R. acicularis* (1), *R. amblyotis* (1), *R. pendulina* L. (3), *R. gallica* L. (3), *R. donetzica* Dubovik (2) и *R. oxyodon* Boiss. (49). Амплификация обоих фрагментов была проведена с использованием стандартных праймеров

NNC-18S10 и C26A для *ITS* (Mort et al. 2007) и с и е для участка *trnL-trnF* (Taberlet et al., 1991). Те же праймеры были использованы для секвенирования, проводившегося на базе ЦКП «Геном» и ЗАО «Синтол». Так как длина анализируемых фрагментов составляла менее 300 пн, в большинстве случаев для секвенирования использовался только прямой праймер. Всего дополнительно в анализ были включены данные по 132 образцам 8 видов шиповников. В результате, в полученной матрице многие виды были представлены несколькими образцами. Это позволило, в известной мере, компенсировать “слепое” использование последовательностей из GenBank: сходство и группировка в анализах последовательностей одного вида, полученных разными авторами, косвенно подтверждает правильность идентификации образцов. Всего в анализ были включены 281 последовательность *ITS1* из 90 видов и 181 последовательность *trnL-trnF* из 78 видов шиповников. Участок *ITS2* был намеренно исключен из анализа по двум причинам: эти последовательности значительно менее вариабельны, чем *ITS1*, а соответственно, и в значительно меньшем числе представлены в GenBank.

Методика извлечения ДНК из сухих листьев, параметры ПЦР и методы секвенирования приведены в других публикациях (Fedorova et al. 2010; Шанцер и др. 2011).

Во всех видах проведенных анализов индели (вставки/делеции) учитывались, как пятое состояние признака (в дополнение к четырем нуклеотидам А, Т, С, G). При этом каждая делеция или вставка кодировалась в выравниваниях, как единичное мутационное событие. Из анализа были исключены различавшиеся по длине мононуклеотидные повторы из-за высокой гомоплазии делеционных событий в этих участках.

Полученные выравнивания были проанализированы методом статистической парсимонии (Templeton et al. 1987, 1992) в программе TCS (Clement et al. 2000). Построенные в результате анализа сети гаплотипов были далее проанализированы методом иерархического анализа (Nested Clade Analysis, NCA) в соответствии с указаниями в Templeton and Sing (1993) и Templeton (1998).

Для укоренения полученных сетей эти же данные были дополнительно проанализированы методом NeighborNet в программе SplitsTree4 ver. 4.11.3 (Huson, 1998; Huson and Bryant 2006).

В качестве внешней группы были использованы последовательности *ITS1* пяти видов рода *Rubus*: *R. caesius* L., *R. idaeus* L., *R. saxatilis* L., *R. trifidus* Thunb. и *R. ulmifolius* Schott, взятые из GenBank.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Генеалогический анализ гаплотипов *ITS1*

Всего в анализ была включена 281 последовательность, длина выравнивания составила 250 позиций. В полученной матрице 37 видов из 90 были представлены 2–6 образцами, последова-

тельности которых были взяты из данных разных авторов. Наибольшим числом образцов были представлены *R. majalis* s.l. (43, наши собственные данные) и *R. moschata* Herrm. (10).

Генеалогия гаплотипов ядерного *ITS1*, построенная методом статистической парсимонии, представлена на рис. 2. Рассчитанный программой предел парсимонии (наибольшее число мутаций, по которым различаются гаплотипы, еще допускающее экономное решение с вероятностью более 95%) был равен 6 и позволил построить сеть, охватывающую все включенные в анализ гаплотипы, за исключением двух: гаплотипа *R. abyssinica* R.

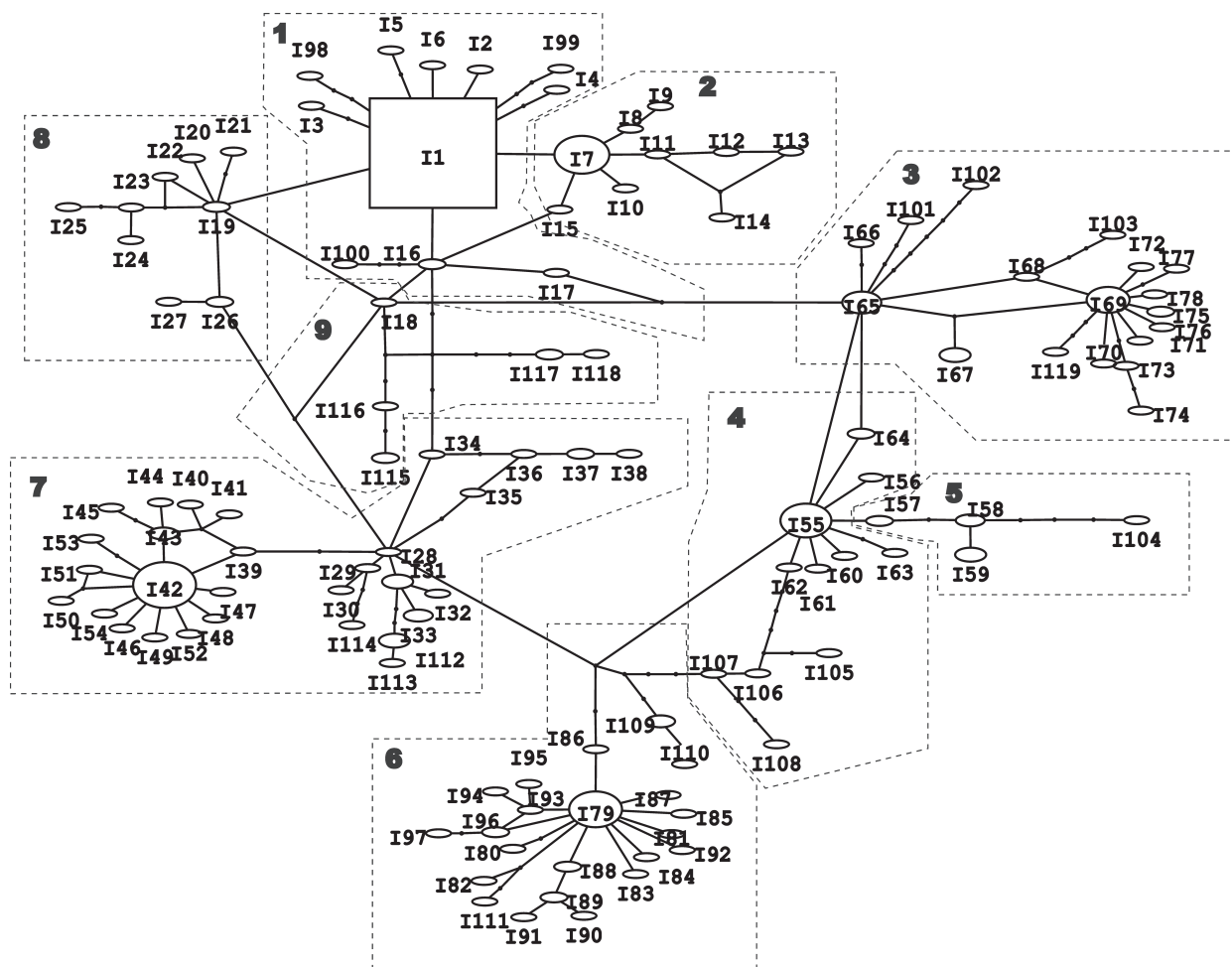


Рис. 2. Генеалогическая сеть гаплотипов *ITS1* *Rosa*. Пунктирными линиями очерчены клады третьего уровня, выявляемые в результате иерархического анализа. Цифрами 1–9 обозначены номера клада.

Fig. 2. Genealogical network of *ITS1* haplotypes of *Rosa*. Dashed lines outline nested clades of the third level, revealed by Nested Clade Analysis. Figures 1–9 correspond to clade numbers.

Вг. и одного из гаплотипов *R. dumalis* Bechst. Всего программой был рассчитан 191 гаплотип, 70 из которых не были обнаружены среди исследованных образцов и представляли собой гипотетические промежуточные гаплотипы. У видов, представленных в выборке множественными образцами, были обнаружены, с одной стороны, множественные и не всегда близкородственные гаплотипы, а с другой – общность некоторых гаплотипов с другими видами. У видов, представленных единичными образцами, гаплотипы в большинстве случаев были видоспецифичными, но иногда оказывались и общими с другими видами. Например, у *R. majalis*, представленной в анализе наибольшим числом образцов (43), у всех из них, кроме двух, был выявлен один и тот же гаплотип I1, общий с *R. davurica* Pall. и *R. fedtschenkoana* Regel из секции Cinnamomeae, а также с отдельными образцами видов других секций (Caninae и Pimpinellifoliae (DC.) Ser.). Гаплотипы двух образцов (I17 и I99) оказались близкими по положению в сети к I1 и отличающимися от него двумя и тремя мутациями соответственно. У *R. moschata* (10 образцов, 16 клонированных последовательностей) в результате анализа было обнаружено 7 гаплотипов, 5 из которых оказались видоспецифичными, а два – общими с другими видами. Из этих двух один оказался общим с образцом *R. henryi* Boulenger (секция Synstylae DC.), а второй – со многими видами секции Caninae. Подобная, но менее ярко выраженная, картина наблюдается и для видов, представленных в анализе меньшим числом образцов и последовательностей.

Из-за большого числа гомоплазий, связанных с множественными параллельными заменами и инделями, сеть содержит 14 замкнутых петель, не позволяющих сделать однозначных выводов о генеалогических связях гаплотипов.

Эти петли, однако, не мешают проведению иерархического анализа клад (Templeton and Sing 1993), который позволяет выделить 72 клады 1-го, 25 клад 2-го и 9 клад 3-го уровня, очерчивающих группы наиболее близкородственных гаплотипов. Эти клады представляют собой “ядра”, включающие центральные гаплотипы и ряд генеалогически близких к ним, различающихся 1–3 мутациями. Результаты анализа позволяют разделить исследованную выборку на 9 больших групп родства, соответствующихкладам 3-го уровня.

Группа 1 включает центральный гаплотип (I1), распространенный от Дальнего Востока до Вос-

точной Европы среди видов секции Cinnamomeae: *R. majalis* s.l. (включая *R. majalis* s.str., *R. glabrifolia*, *R. pratorum*, *R. gorinkensis*), *R. davurica*, *R. fedtschenkoana*, а также у некоторых видов секции Caninae (*R. mollis* Sm., *R. agrestis* Savi и *R. caesia* Sm.) и у *R. spinosissima* L. *Rosa beggeriana* Schrenk обладает производным от I1 гаплотипом I4.

Группа 2 включает центральный гаплотип (I7), распространенный среди североамериканских и восточноазиатских представителей секции Cinnamomeae: диплоидов *R. amblyotis* и ее сахалинской разновидности *R. marretii* H. Lév., *R. rugosa* Thunb., *R. woodsii* Lindl., *R. blanda* Aiton, и имеющих дополнительные гаплотипы тетраплоидов *R. carolina* Willd., *R. virginiana* Herrm., *R. arkansana* Porter, а также *R. sicula* Tratt. из секции Caninae (один гаплотип из 5). Производные от него гаплотипы североамериканских диплоидов *R. nitida* Willd. и *R. palustris* Marsh. и тетраплоидов *R. carolina*, *R. arkansana* и *R. virginiana* связаны с этой группой и образуют петлю вместе с одним из гаплотипов восточноазиатской *R. sertata* Rolfe.

Группа 3 включает гаплотипы, родственные I65 и распространенные среди полиплоидных горных и циркумбореальных видов секций Cinnamomeae и Pimpinellifoliae: *R. acicularis*, *R. pendulina*, *R. altaica* Willd. и *R. suffulta* Greene. От этой группы происходят I69 и производные от него гаплотипы, распространенные среди гималайских и европейско-западноазиатских представителей секций Gallicanae (DC.) Ser., Caninae и Synstylae: *R. alba* L., *R. phoenicia* Boiss., *R. gallica*, *R. sempervirens* L., *R. moschata*, *R. canina* L., *R. dumalis* и *R. villosa*.

Группу 4 образуют гаплотипы, родственные I55, и характерные для видов секций Synstylae и Chinenses DC. восточноазиатско-гималайского распространения: *R. wichuraiana* Crép., *R. tunquinensis* Crép., *R. maximowicziana* Regel, *R. luciae* Franch. et Rochebr., *R. multiflora* Thunb. ex Murr., *R. chinensis* Jacq., *R. odorata* (Andrews) Sweet, *R. moschata*, *R. rubus* H. Lév. et Vaniot, *R. sambucina* Koidz. и *R. henryi*. Производная от нее группа 5 включает 4 гаплотипа, также характерные для видов секции Synstylae: *R. rubus*, *R. sambucina*, *R. henryi* и *R. helenae* Rehder et E.H. Wilson.

Группа 6 образована гаплотипами, связанными с центральным гаплотипом I79, и включает в себя исключительно гаплотипы видов секции Caninae. Однако в ее основании лежит гаплотип I86, характерный для *R. phoenicia* из секции Synstylae.

Группа 7 включает в себя два связанных друг с другом “ядра”. Одно из них, внутреннее, образовано гаплотипами, производными от I28, распространенными среди восточно- и центральноазиатских видов секций *Laevigatae*, *Banksianae* и *Pimpinellifoliae*: *R. x fortuneana* Lem., *R. laevigata* Michx., *R. xanthina* Lindl., *R. primula* Boulenger, *R. ecae* Aitch., *R. foetida* Herrm., *R. cymosa* Tratt. и *R. banksiae* W.T. Aiton. Второе “ядро”, с центральным гаплотипом I42, образовано преимущественно гаплотипами, распространенными среди европейско-западноазиатских видов секции *Caninae*. Однако сам центральный гаплотип I42 встречается также и у гималайско-западноазиатской *R. moschata* из секции *Synstylae*, а два производных от него концевых гаплотипа – у *R. gallica*.

Группа 8 образована гаплотипами, производными от I19. Эта группа тесно связана с группой 1 (их центральные гаплотипы I19 и I1 различаются единственной мутацией) и замыкает большую петлю, в которую объединены все клады 3-го уровня. В группу 8 объединены гаплотипы, распространенные среди западно-китайско-юньнаньских и центральноазиатских представителей секции *Cinnamomeae*: *R. willmottiae* Hemsl., *R. laxa* Retz., *R. davidii* Crép., *R. multibracteata* Hemsl. et E.H. Wilson, *R. praelucens* Bijh., *R. persetosa* Rolfe и *R. sertata* Rolfe.

Последняя группа 9 является наименее выраженной, так как включает множество гипотетических гаплотипов, дедуцированных программой и отсутствующих в исходной матрице. Она объединяет гаплотипы, распространенные среди наиболее филогенетически изолированных в роде *Rosa* видов – *R. stellata* Wooton (подрод *Hesperhodos*) и *R. persica* Michx. ex Juss. (подрод *Hulthemia*), а также один из гаплотипов *R. spinosissima* (подрод *Rosa*, секция *Pimpinellifoliae*), который, впрочем, гораздо ближе к группам 1 и 8, чем к гаплотипам своей группы.

Генеалогический анализ гаплотипов *trnL-trnF*

Так как хлоропластные последовательности у шиповников, так же, как и у большинства других цветковых растений, наследуются только по материнской линии, это позволяет исключить из анализа большую часть событий, связанных с гибридизацией, и проследить ход эволюции и географического расселения группы, обусловлен-

ный распространением семян. Поэтому такой же анализ был проведен для межгенного спейсера хлоропластной ДНК *trnL-trnF*, отражающего связи гаплотипов по материнской линии.

Всего в анализ была включена 181 последовательность, длина выравнивания составила 283 позиции. Из 78 включенных в анализ видов 15 были представлены несколькими образцами, последовательности которых были взяты из данных разных авторов. Наибольшим числом образцов были представлены *R. majalis* s.str. (20) и *R. oxyodon* (49), по нашим собственным данным. Рассчитанный программой 95% предел парсимонии был равен 7 и позволил построить сеть, охватывающую все включенные в анализ гаплотипы (Рис. 3). Всего программой были рассчитаны 48 гаплотипов, 14 из которых не были обнаружены среди исследованных образцов и представляли собой гипотетические промежуточные гаплотипы. Полученная сеть имеет только одну замкнутую петлю, делающую не вполне определенным положение гаплотипа, характерного для *R. minutifolia* Engelm., вида, крайне близкого к *R. stellata* из подрода *Hesperhodos*. Так как длина выравнивания была невелика, для сравнения сеть была построена также для матрицы, построенной по всему региону *trnL-trnF*, включающему часть кодирующей последовательности гена *trnL*, интрон гена *trnL* и межгенный спейсер *trnL-trnF*. Общая длина выравнивания в последнем случае составила 851 позицию, но включала только 85 последовательностей, взятых из GenBank. Топологии обеих сетей оказались идентичными, но вторая содержала значительно больше гипотетических промежуточных гаплотипов (не показано). Поэтому иерархический анализ был проведен для первой сети, содержащей значительно больше последовательностей. Иерархический анализ выделил на кладограмме 19 клад 1-го и 6 клад 2-го уровня. Результаты анализа позволяют разделить исследованную выборку на 6 больших групп родства, соответствующихкладам 2-го уровня. Выделенные группы гаплотипов имеют следующий состав.

Группа 1 образована гаплотипами, производными от центрального гаплотипа T3. Она включает в себя исключительно гаплотипы евразийских видов секции *Cinnamomeae*: *R. majalis* s.l., *R. donetzica*, *R. corymbulosa* Rolfe, *R. webbiana* Wall. и 3 из 5 гаплотипов кавказской *R. oxyodon*. Эта группа по составу наиболее близка к группе

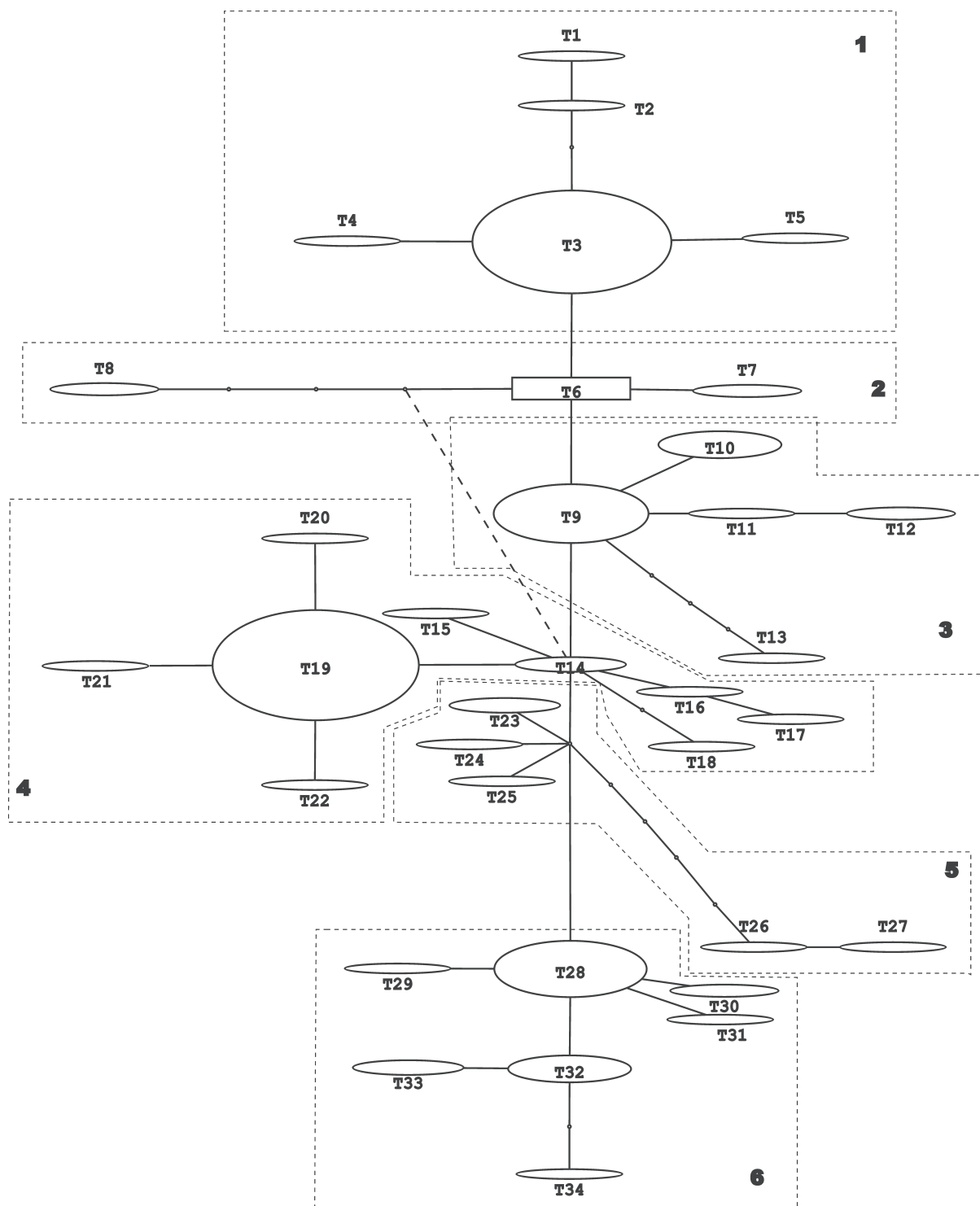


Рис. 3. Генеалогическая сеть гаплотипов *trnL-trnF* *Rosa*. Пунктирными линиями очерчены клады второго уровня, выявляемые в результате иерархического анализа. Цифрами 1–6 обозначены номера клада.

Fig. 3. Genealogical network of *trnL-trnF* haplotypes of *Rosa*. Dashed lines outline nested clades of the second level, revealed by Nested Clade Analysis. Figures 1–6 correspond to clade numbers.

1, выделяемой по данным ядерных *ITS1*, отличия определяются, главным образом, различиями в составе выборки.

Группа 2 образована гаплотипами, производными от T6, характерными для видов секции *Cinnamomeae*, распространенных на северо-востоке Азии (*R. amblyotis*, *R. nipponensis* Crép. и *R. rugosa*) и на западе Северной Америки (*R. bridgesii* Crép. ex Rydb., *R. granulata* Greene, *R. lesterae* Eastw., *R. spithamea* A. Gray).

В группу 3 входят гаплотипы, производные от центрального гаплотипа T9. Они характерны для центрально- и восточноазиатских видов секции *Cinnamomeae* и большинства североамериканских видов этой секции, а также секции *Carolinae* Crép. В эту же группу входят один из 5 гаплотипов центральноевропейской *R. pendulina* и гаплотип *R. koreana* Kom., обычно относимой к секции *Pimpinellifoliae*. Кроме того, к этой группе относится гаплотип *R. andegavensis* из секции *Caninae*. Группы 2 и 3 по составу практически совпадают с группой 2 и, частично, группой 3, выделяемым по данным *ITS1*.

Группа 4 включает гаплотипы, производные от T14, которые распространены среди китайско-центральноазиатских представителей секций *Cinnamomeae* (3 из 4 гаплотипов *R. acicularis*, 3 из 5 *R. pendulina*, *R. multibracteata*, *R. bella*, *R. beggeriana*, *R. laxa*, *R. caudata* и 2 гаплотипа *R. oxyodon*) и *Pimpinellifoliae* (*R. primula*, *R. altaica* и *R. foetida*).

Группа 5 объединяет пять гаплотипов, сходящихся к отсутствующему в выборке гипотетическому промежуточному гаплотипу. Они характерны для восточноазиатских видов секций *Banksianae* Lindl., *Bracteatae* Thory и подрода *Platyrhodon*. В эту же группу входит центральноазиатская *R. persica*, отделенная от остальных ее членов, однако, четырьмя дополнительными промежуточными гаплотипами. Их родство, однако, далеко не столь очевидно, исходя из генеалогических связей гаплотипов ядерных *ITS1*. Анализ сети, построенной по полной последовательности региона *trnL-trnF* также разделяет *R. persica* и виды секций *Banksianae* и *Bracteatae*, образующие самостоятельную группу.

К группе 6 относятся гаплотипы, производные от центральных гаплотипов T28 и T32, образующие три клады первого уровня. Клада, образованная гаплотипами, производными от T28, включает в себя виды секций *Caninae*, *Gallicanae*

и наиболее западных представителей секции *Synstylae* (*R. arvensis* Huds., *R. moschata* и индийскую *R. leschenaultiana* Red. et Thory ex Wight et Arn. К этой же группе относятся гаплотип североамериканской *R. setigera* Michx. (*Synstylae*) и один из гаплотипов *R. pendulina*. Эта группа соответствует группам 6 и 7, выделяемым по данным *ITS1* и, так же как и результаты анализа ядерных последовательностей, выявляет родственные связи видов секции *Caninae* с западноазиатскими представителями *Synstylae*. Клады, производные от гаплотипа T32, включают восточноазиатских представителей секций *Synstylae*, *Chinenses*, *Laevigatae*, один из гаплотипов *R. cymosa* из секции *Banksianae*, а также *R. xanthina* из секции *Pimpinellifoliae*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Укоренение сетей

Так же как и любая кладограмма, сеть изначально является неориентированной. Укоренение ее возможно посредством введения внешней группы, которая в идеале должна включать в себя представителей ближайшего родственного (сестринского) таксона. С другой стороны, основание некоторых сетей может быть рассчитано исходя из представлений теории коалесценции. В этом случае корневой группой оказывается гаплотип, расположенный в одном из внутренних узлов. Этот метод часто используется в филогеографии, но на надвидовом уровне применять его следует с осторожностью (Jakob and Blattner, 2006).

По данным Potter et al. (2007) род *Rosa* является одним из базальных таксонов подсемейства *Rosoideae* и сестринским по отношению к трибе *Potentillaceae*. Базальнее него на дереве располагаются только клада *Colurieaeae*, включающая роды *Fallugia* Endl., *Geum* L. и *Sieversia* Willd., род *Rubus* и род *Filipendula* Mill. Последний оказывается сестринским по отношению ко всему остальному подсемейству.

В работах по филогении *Rosa* в качестве внешней группы разными авторами использовались представители родов *Rubus* (Wissemann and Ritz 2005; Koopman et al. 2008) и *Potentilla* L. (Bruneau et al. 2007). Однако, независимо от выбора внешней группы, во всех случаях результаты анализа оказались неоднозначными. Так, наиболее базаль-

ной группой *Rosa* в разных анализах оказывались разные виды и группы видов. В консенсусном дереве, построенном по данным совместного анализа хлоропластных спейсеров *trnL-trnF* и *psbA-trnH* методом максимальной экономии (Bruneau et al., 2007) в сестринском положении по отношению ко всему остальному роду оказалась *R. minutifolia* (подрод *Hesperhodos*). Однако Байесовский анализ тех же данных выявил базальную политомию с *R. primula* и *R. foetida*, а *R. minutifolia* оказалась включенной в политомию в основании одной из двух выявленных крупных клад.

На Байесовском дереве (Wissemann and Ritz 2005), построенном по данным полиморфизма хлоропластного спейсера *atpB-rbcL* было получено дерево с *R. persica* (подрод *Hulthemia*) и *R. laevigata* (секция *Leavigatae* Thory), образующими граду в его основании. При анализе же последовательности ядерного внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальной ДНК (*ITS1*) было получено дерево иной топологии, на котором базальная политомия была образована двумя крупными многовидовыми кладами. Интересно, что в основании одной из этих двух клад располагается субклада, в состав которой вошли *R. stellata* (подрод *Hesperhodos*), *R. persica*, *R. laevigata*, *R. primula*, *R. foetida* и *R. ecae*. Однако во всех случаях поддержка внутренних узлов и базальных ветвей на этих деревьях оказалась низкой.

Чтобы попытаться выявить наиболее базальную группу видов *Rosa*, мною был проведен анализ последовательностей *ITS1* и *trnL-trnF* методом NeighborNet, реализованным в программе SplitsTree4, с использованием в качестве внешней группы 31 последовательности видов рода *Rubus*. Этот метод строит не деревья, а сплитграфы, в которых длина ребер сети показывает вероятность связей между узлами. Таким образом, построенная сеть отражает не только наиболее экономные решения, но все пространство возможных решений. Анализ данных по обоим типам последовательностей выявил в качестве базальной (т.е. наиболее близкой к *Rubus*) группы роз виды подрода *Hesperhodos*. Для ядерной последовательности *ITS1* наиболее близкими к *Rubus* оказались последовательности *R. stellata* (Рис. 4), а для хлоропластного спейсера *trnL-trnF* – *R. minutifolia* (не показано). Эти морфологически очень сходные виды известны из двух дизъюнктивных, небольших по площади участков ареала на юге и

вдоль тихоокеанского побережья Северной Америки. Нельзя исключить, что эта морфологически крайне своеобразная группа является непосредственным производным исходной группы роз. Эти данные указывают также на вероятное североамериканское происхождение этого рода, что не противоречит и палеонтологическим данным.

Если это предположение верно, то группа 2, установленная по данным хлоропластной последовательности *trnL-trnF*, представляет собой ближайшего потомка первичной группы роз, остатком которой является подрод *Hesperhodos*. От нее происходят группы 1 (распространившаяся по всей северной Евразии) и 2 (восточная Азия и Северная Америка), представленные видами секции *Cinnamomeae*. Группа 6 представляет собой одно из наиболее поздних производных в этой генеалогической линии, что говорит об эволюционной молодости не только секции *Caninae*, но и секций *Synstylae*, *Banksianae*, *Chinenses* и *Laevigatae*. Последнее свидетельствует о том, что розы-лианы субтропических регионов, рассматривавшиеся В.Г. Хржановским (1958), как остатки наиболее древних и по большей части уже вымерших групп шиповников, напротив, представляют собой молодое образование. Последний вывод в отношении видов секции *Synstylae* выглядит вполне логичным с точки зрения морфологии, так как характерное для всех видов секции плотное слипание стилодиев в единую колонку, несомненно, является вторичным состоянием этого признака, производным от свободного положения стилодиев у плодолистиков апокарпного гинецея.

Секционное деление рода *Rosa* в свете молекулярно-филогенетических данных

Анализ генеалогий гаплотипов ядерных и хлоропластных последовательностей *Rosa* показывает, что секционное деление рода, принятое в современной систематике, лишь отчасти отражает филогенетические связи входящих в него видов. Все традиционно принимаемые секции оказываются парафилетическими или, отчасти, даже полифилетическими, что связано с близким родством многих современных видов и, в ряде случаев, их гибридогенным происхождением. В частности, результаты анализа ядерных *ITS1* указывают на вероятное аллополиплоидное происхождение таких широко распространенных видов, как *R.*

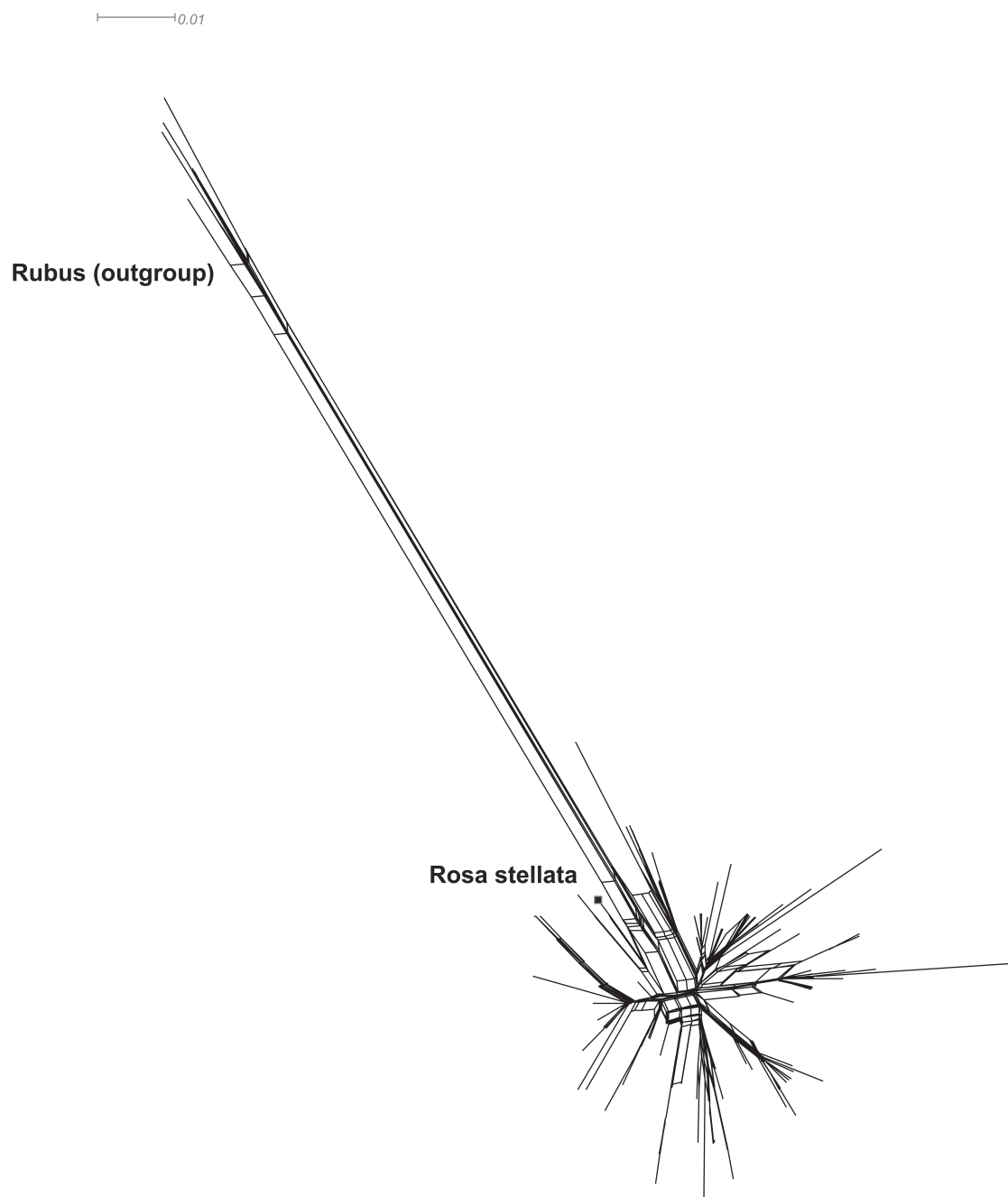


Рис. 4. Сплитграф, построенный методом NeighborNet по данным последовательностей *ITS1* *Rosa*, отображающий положение *R. stellata* относительно внешней группы и последовательностей других видов рода. Обозначения всех остальных терминальных групп удалены.

Fig. 4. Neighbor Net network of *ITS1* sequences of *Rosa*, showing the position of *R. stellata* relative the outgroup and other *Rosa* species. Labels of all the other terminal groups are deleted.

acicularis (секция *Cinnamomeae*) и *R. spinosissima* (секция *Pimpinellifoliae*).

Установить сколько-нибудь однозначно отношения групп гаплотипов, полученных в результате анализа ядерных последовательностей *ITS1*, нельзя из-за петель, вызванных гомоплазиями и неоднозначностью данных. Вместе с тем, результаты обоих анализов оказываются в значительной мере конгруэнтными друг другу. Так, и по ядерным, и по хлоропластным данным выделяются две группы видов, наиболее филогенетически изолированные от остальных представителей рода. Это виды североамериканского подрода *Hesperhodos* (*R. stellata* и *R. minutifolia*), *R. roxburghii* (восточноазиатский подрод *Platyrrhodon*) и *R. persica*, обычно выделяемая в отдельный подрод *Hulthemia*. Их положение и возможное родство различается при анализе хлоропластных и ядерных данных. Вероятно, эти виды представляют собой эволюционно изменившиеся остатки наиболее древней группы роз, большая часть представителей которой к настоящему времени полностью вымерла. Среди них подрод *Hesperhodos*, представители которого занимают реликтовые ареалы на юге и западе Северной Америки, во всех анализах оказывается базальным по отношению ко всем остальным видам рода.

В обоих случаях (и по *ITS1*, и по хлоропластным данным) выделяется группа видов секции *Cinnamomeae*, распространенная на востоке Азии и западе Северной Америки. По хлоропластным данным она оказывается связанной с представителями подрода *Hesperhodos* и может быть исходной группой для большинства современных видов и секций. Ее берингийское распространение вполне логично увязывается с широким распространением производных от нее групп и в Евразии, и в Северной Америке.

Интересно, что анализ обоих типов данных указывает на базальное положение западноазиатских видов секции *Synstylae* (*R. moschata*, *R. phoenicia*, *R. arvensis*) по отношению к остальным видам этой секции, распространенным преимущественно в Восточной Азии. Это противоречит традиционному существующим представлениям (Хржановский 1958) о большой древности восточноазиатских видов *Synstylae* и их третичных миграциях на запад вдоль Гималаев. Наши данные указывают на то, что все происходило с точностью до наоборот, и распространение видов этой секции шло с запада на восток. В пользу этого свидетельствует

также изолированное положение *ITS1* гаплотипов *R. abyssinica*, единственного представителя секции, распространенного в северо-восточной Африке. С западными же видами *Synstylae* связаны гаплотипы единственного североамериканского представителя секции – *R. setigera*. Таким образом, дизъюнкция ареала секции оказывается не классической, Восточная Северная Америка – Восточная Азия, а указывающей на связи Европы и Западной Азии с Северной Америкой.

Еще одним согласованным результатом проведенных анализов является положение гаплотипов европейско-западноазиатских представителей секции *Synstylae* *R. phoenicia* и *R. moschata* в основании клад, образованных гаплотипами видов секции *Caninae* (или, в любом случае, демонстрирующих тесное родство с ними). Таким образом, эти виды (или их ближайший общий предок) оказываются наиболее вероятными кандидатами на роль так называемой «*Rosa protocanina*», гипотетического диплоидного вида, в результате гибридизаций которого с видами других секций по мнению ряда авторов (Zieliński 1985; Ritz et al. 2005) возникла секция *Caninae*. Присутствие ядерных и хлоропластных гаплотипов представителей секции *Caninae* в кладах, преимущественно образованных гаплотипами, характерными для видов секции *Cinnamomeae*, указывает на других вероятных родителей этой аллополиплоидной группы. Тот факт, что эти гаплотипы расположены в разных, не связанных непосредственно друг с другом кладах говорит именно о последствиях гибридизации, а не неполной сортировки филогенетических линий в группах близкородственных видов.

Таким образом, анализ сетей гаплотипов, построенных методом статистической парсимонии, позволяет выделять группы близкородственных гаплотипов, имеющих общее или викарное географическое распространение. В группах, подобных розам, т.е. с обилием молодых и гибридогенных видов, такой анализ позволяет извлечь из данных по последовательностям ДНК гораздо больше информации об их истории, нежели прямолинейно примененные кладиристические алгоритмы анализа.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 10-04-00240). Автор благодарен трем анонимным рецензентам за внимательное и критическое чтение рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамсон Н.И. 2007. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы. *Вестник ВОГуС*, 11(2): 307–331.
- Хржановский В.Н. 1958. Розы. Филогения и систематика. Спонтанные виды Европейской части СССР, Крыма и Кавказа. Опыт и перспективы использования. Советская Наука, Москва, 497 с.
- Шанцер И.А. 2001. Современное состояние таксономической изученности восточноевропейских шиповников (*Rosa* L.). *Бюллетень МОИП. Отдел биологический*, 106(2): 43–48.
- Шанцер И.А., Вагина А.В. и Остапко В.М. 2011. Критическое исследование шиповников (*Rosa* L.) заповедника “Хомутовская степь”. *Бюллетень МОИП. Отдел биологический*, 116(3): 38–49.
- Шнеер В.С. 2005. Краткий очерк способов получения, обработки и трактовки данных по последовательности ДНК в систематике растений. *Ботанический журнал*, 90(3): 304–323.
- Avise J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.A. and Saunders N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 18: 489–522.
- Bandelt H.-J., Forster P. and Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37–48.
- Becker H.F. 1963. The fossil record of the genus *Rosa*. *Bulletin of Torrey Botanical Club*, 90(2): 99–110.
- Bruneau A., Starr J.R. and Joly S. 2007. Phylogenetic relationships in the genus *Rosa*: new evidence from chloroplast DNA sequences and an appraisal of current knowledge. *Systematic Botany*, 32(2): 366–378.
- Cassens I., Van Waerenbeek K., Best P.B., Crespo E.A., Reyes J. and Milinkovitch M.C. 2003. The phylogeography of dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*): a critical examination of network methods and rooting procedures. *Molecular Ecology*, 12(7): 1781–1792.
- Clement M., Posada D. and Crandall K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9(10): 1657–1659.
- Crandall K.A. and Templeton A.R. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics*, 134: 959–969.
- Degnan J.H. and Rosenberg N.A. 2009. Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescence. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(6): 332–340.
- Doyle J.J. 1992. Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, 17(1): 144–163.
- Eriksson T., Donoghue M.J. and Hibbs M.S. 1998. Phylogenetic analysis of *Potentilla* using DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacers (*ITS*), and implications for the classification of Rosoideae (Rosaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 211: 155–179.
- Fedorova A.V., Schanzer I.A. and Kagalo A.A. 2010. Local differentiation and hybridization in populations of wild roses in W Ukraine. *Wulfenia*, 17: 99–115.
- Gurushidze M., Fritsch R.M. and Blattner F.R. 2010. Species-level phylogeny of *Allium* subgenus *Melanocrommyum*: Incomplete lineage sorting, hybridization and *trnF* gene duplication. *Taxon*, 59(3): 829–840.
- Hein J., Scheirup M.H. and Wiuf C. 2005. Gene genealogies, variation and evolution. A primer in coalescent theory. Oxford University Press, New York, 276 p.
- Helfgott D.M., Francisco-Ortega J., Santos-Guerra A., Jansen R.K. and Simpson B.B. 2000. Biogeography and breeding system evolution of the woody *Bencomia* alliance (Rosaceae) in Macaronesia based on *ITS* sequence data. *Systematic Botany*, 25(1): 82–97.
- Hudson R.R. 1991. Gene genealogies and the coalescent process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 7: 1–44.
- Huson D.H. 1998. SplitsTree: A program for analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics*, 14(10): 68–73.
- Huson D.H. and Bryant D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23(2): 254–267.
- Iwata H., Kato T. and Ohno S. 2000. Triparental origin of Damask roses. *Gene*, 259(1–2): 53–59.
- Jacob S.S. and Blattner F.R. 2006. A chloroplast genealogy of *Hordeum* (Poaceae): long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution*, 23(8): 1602–1612.
- Joly S., Starr J.R., Lewis W.H. and Bruneau A. 2006. Polyploid and hybrid evolution in roses east of the Rocky Mountains. *American Journal of Botany*, 93: 412–425.
- Khaitova L., Werlemark G., Nybom H., Kovarik A. 2010. Frequent silencing of rDNA loci on the univalent-forming genomes contrasts with their stable expression on the bivalent-forming genomes in polyploid dogroses (*Rosa* sect. Caninae). *Heredity*, 104(1): P. 113–120.
- Kingman J.F.C. 1982. On the genealogy of large populations. *Journal of Applied Probability*, 19: 27–43.
- Kingman J.F.C. 2000. Origins of the coalescent: 1974–1982. *Genetics*, 156: 1461–1463.
- Koopman W.J.M., Wissemann V., De Cock K., Van Huylenbroeck J., De Riek J., Sabatino G.J.H., Visser D., Vosman B., Ritz C.M., Maes B., Werlemark G., Nybom H., Debener T., Linde M. and Smulders M.J.M. 2008. AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: a case study in *Rosa* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 95(3): 353–366.

- Kovarík A., Werlemark G., Leitch A.R., Souckova-Skalicka K., Lim Y.K., Khaitova L., Koukalova B. and Nybom H. 2008. The asymmetric meiosis in pentaploid dogroses (*Rosa* sect. Caninae) is associated with a skewed distribution of rRNA gene families in the gametes. *Heredity*, **101**(4): 359–367.
- Matsumoto S., Kouchi M. and Fukui H. 2000. Phylogenetic analyses of the subgenus *Eurosa* using the *ITS* nrDNA sequence. *Acta Horticulturae*, 521: 193–202.
- Matsumoto S., Nishio H., Ueda Y. and Fukui H. 2001. Phylogenetic analyses of genus *Rosa*: polyphyly of section *Pimpinellifoliae* and origin of *Rosa* x *fortuniana* Lindl. *Acta Horticulturae*, **547**: 357–363.
- McNutt P.M., Dehart M.J. and Matej L.A. 2007. Characterization of the 16S-23S internal transcribed spacer among 34 higher plants: suitability for interspecific plastid transformation. *Plant Cell Reports*, **26**(1): 47–60.
- Mort M.E., Archibald J.K., Randle C.P., Levens N.D., O'Leary T.R., Topalov K., Wiegand C.M. and Crawford D.J. 2007. Inferring phylogeny at low taxonomic levels: utility of rapidly evolving cpDNA and nuclear *ITS* loci. *American Journal of Botany*, **94**(2): 173–183.
- Page R.D. and Charleston M.A. 1997. From gene to organismal phylogeny: reconciled trees and the gene tree/species tree problem. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **7**(2): 231–240.
- Posada D. and Crandall K.A. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**(1): 37–45.
- Potter D., Eriksson T., Evans R.C., Oh S., Smedmark J.E.E., Morgan D.R., Kerr M., Robertson K.R., Arsenault M., Dickinson T.A. and Campbell C.S. 2007. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*, **266**: 5–43.
- Ritz C. M. and Wissemann V. 2003. Male correlated non-matrocinal character inheritance in reciprocal hybrids of *Rosa* section Caninae (DC.) Ser. (Rosaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **241**: 213–221.
- Ritz, C.M., Schmuths, H. and Wissemann, V. 2005. Evolution by reticulation: European dogroses originated by multiple hybridization across the genus *Rosa*. *Journal of Heredity*, **96**(1): 4–14.
- Rosenberg N.A. and Nordborg M. 2002. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature reviews. Genetics*, **3**: 380–390.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G. and Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, **17**: 1105–1109.
- Templeton A.R. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**: 381–397.
- Templeton A.R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology*, **10**: 779–791.
- Templeton A.R. and Sing C.F. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics*, **134**: 659–669.
- Templeton A.R., Boerwinkle E. and Sing C.F. 1987. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*. *Genetics*, **117**: 343–351.
- Templeton A.R., Crandall K.A. and Sing C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**: 619–633.
- Wissemann V. and Ritz C. 2005. The genus *Rosa* (Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and atpB-rbcL intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **147**: 275–290.
- Woolley S.M., Posada D. and Crandall K.A. 2008. A comparison of phylogenetic network methods using computer simulation. *PLoS ONE*, **3**(4): e1913. doi: 10.1371/journal.pone.0001913.
- Wu S., Ueda Y., Nishihara S. and Matsumoto S. 2001. Phylogenetic analysis of Japanese *Rosa* species using DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacers (*ITS*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **76**: 127–132.
- Zieliński J. 1985. Studia nad rodzajem *Rosa* L. – Systematyka sekcji Caninae DC. em. Christ. *Arboretum Kórnickie*, **30**: 3–109.