

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *ANEMONE JENISSEENSIS* (RANUNCULACEAE) НА ЮГЕ ПРИЕНИСЕЙСКОЙ СИБИРИ

© 2020 г. А. Н. Мариничева^{1,*}, И. Е. Ямских¹, Н. В. Степанов¹, М. Г. Куцев^{1,2}

¹ Сибирский федеральный университет
пр. Свободный, 79, Красноярск, 660041, Россия

² Алтайский государственный университет
ул. Ленина, 61, Барнаул, 656049, Россия

*e-mail: alexandra.marinicheva@outlook.com

Поступила в редакцию 01.11.2019 г.

После доработки 22.01.2020 г.

Принята к публикации 28.02.2020 г.

Изучена морфологическая и генетическая изменчивость 10 природных ценопопуляций сибирского эндемика *Anemone jensseensis* (Korsh.) Krylov, произрастающих в растительных сообществах Красноярской лесостепи, Западного и Восточного Саяна. Установлено, что данный вид обладает относительно широким фитоценоотическим ареалом и может встречаться в мелколиственных (березовые, осиновые леса), светлых (сосняки), смешанных лесах, в пойменных ивняках, а также на вырубках. Среднее количество побегов на 1 м² варьирует от 15 до 31 шт. Максимальные размеры вегетативных органов, показатели семенной продуктивности и генетического разнообразия вида наблюдаются в подтаежных лесах Западного Саяна и в Красноярской лесостепи. На вырубках отмечается достоверное снижение морфологических показателей *Anemone jensseensis*, однако уровень внутривидовой модификационной изменчивости и показатели семенной продуктивности варьируют в пределах средних значений. Генетическую изменчивость ценопопуляций *Anemone jensseensis* выявляли с помощью ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeats) метода. Суммарный процент полиморфных локусов составляет 100. Изученные ценопопуляции характеризуются средним уровнем внутривидовой генетической изменчивости (55.86–71.17%) и очень высокой степенью дифференциации ($G_{st} = 0.3316$). На дендрограммах сходства, построенных на основе морфологических и генетических данных, достоверно выделяется группа ценопопуляций, характеризующаяся крупными, глубоко расчлененными боковыми сегментами листа. Разделения ценопопуляций по географическому принципу не выявлено.

Ключевые слова: *Anemone jensseensis*, эндемик, морфолого-генетический анализ, ценопопуляции, ISSR-PCR, генетическое разнообразие, Южная Сибирь, Красноярский край, Хакасия

DOI: 10.31857/S0006813620040079

Одной из наиболее интересных и относительно слабо изученных в Южной Сибири является группа весенних эфемероидов, принадлежащих к роду *Anemone*: *Anemone reflexa* Steph., *A. jensseensis* (Korsh.) Krylov, *A. altaica* (С.А. Мей) Holub, *Anemone caerulea* DC. Данные виды относятся к числу эндемиков, третичных неморальных реликтов и занесены в сводки редких и исчезающих видов растений различного уровня.

Объектом нашего исследования является сибирский эндемик *A. jensseensis*. Распространена в пределах Красноярского края, Хакасии. Встречается в лесах Томской, Кемеровской, Иркутской областей. Растение включено в “Красную книгу Иркутской области” (Red..., 2010) – категория 2 (V), уязвимый вид.

Для разработки методов сохранения генетического разнообразия редких видов необходимы сведения о полиморфизме и генетической структуре их ценопопуляций (Filippov, Andronova, 2017). Работы по изучению генетического разнообразия представителей рода *Anemone* проводились преимущественно за рубежом (Schuettpehl et al., 2002; Cai et al., 2009; Mlinarec et al., 2011; Sun et al., 2012; Zhang et al., 2015; Jiang et al., 2017), и, лишь в некоторых случаях, в Сибири (Marinicheva, Yamskikh, 2017; Yamskikh et al., 2011). Среди сибирских видов ветрениц менее всего изучена *Anemone jensseensis*. В настоящее время отсутствуют сведения о морфологической и генетической структуре популяций, внутривидовой дифференциации данного вида.

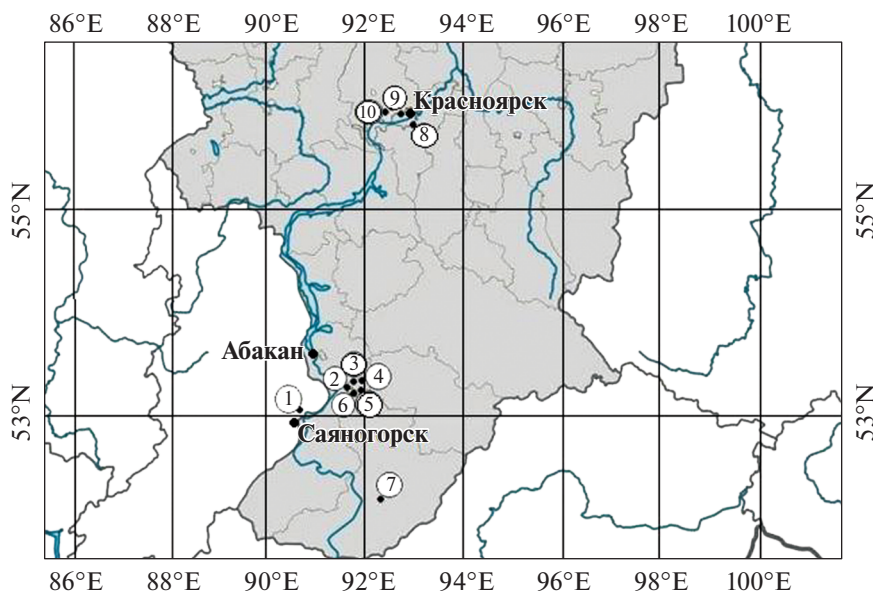


Рис. 1. Расположение ценопопуляций *Anemone jenseensis* (нумерация в соответствии с табл. 1).
Fig. 1. Map of the location of *Anemone jenseensis* coenopopulations (the numbers correespond to Table 1).

A. jenseensis относится к семейству Ranunculaceae и представляет собой многолетнее травянистое растение с членистым, распадающимся, мясистым корневищем (Luferov, Starodubtsev, 1995). В естественных условиях ветреница енисейская размножается, преимущественно, вегетативным способом, путем отмирания более старых участков корневищ и обособления самостоятельных особей (Barykina, 1995).

Цель исследования – изучение морфолого-генетической изменчивости природных ценопопуляций (ЦП) *A. jenseensis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала проводился в период 2007–2018 гг. в Красноярской лесостепи, в горах Западного и Восточного Саяна (рис. 1). Объектом исследования явились 10 ценопопуляций *A. jenseensis*. На первом этапе исследования изучали фитоценоотическую приуроченность ветреницы. В исследуемом районе описано свыше 50 местообитаний вида. Геоботанические описания проведены по общепринятым методикам (Voronov, 1973). При изучении состояния ценопопуляций ветреницы енисейской определяли проективное покрытие, плотность, оценивали изменчивость вегетативных и генеративных признаков, семенную продуктивность, изучали генетическую вариабельность на основе ISSR-PCR анализа. Характеристика местообитаний вида приведена в табл. 1.

Измерения параметров вегетативных органов и показателей семенной продуктивности ветре-

ницы для оценки фенотипической изменчивости проводили на 30 генеративных побегах. Большая часть оцениваемых нами морфометрических признаков приводится в качестве диагностических для определения видов во “Флоре СССР” (Yuzepchuk, 1937), “Флоре Средней Сибири” (Popov, 1957), “Флоре Сибири” (Timokhina, 1993). Кроме метрических, использовался и ряд аллометрических параметров, оценивающих соотношение в развитии разных частей растений. Показатели семенной продуктивности определяли по методике Г.П. Дюрягиной и М.М. Ивановой (Dyuryagina, Ivanova, 1985). У побегов ветреницы енисейской измерялись следующие параметры: длина стебля (×1), длина цветоноса (×2), длина черешка (×3), длина (×4) и ширина (×5) центрального сегмента листа, соотношение длины и ширины листа (×6), соотношение длины стебля и длины листа (×7), глубина выреза на центральном сегменте (×8), соотношение длины выреза и длины листа (×9), количество зубчиков (×10), длина (×11) и ширина (×12) бокового сегмента листа, количество зубчиков на боковом сегменте (×13), длина выреза на боковом сегменте (×14), соотношение длины выреза и длины листа (×15), длина (×16) и ширина (×17) лепестков, количество цветков (×18), реальная (с1) и потенциальная (с2) семенные продуктивности; коэффициент семенификации (с3).

При математической обработке данных рассчитывали пределы варьирования признака (min-max), среднее арифметическое (\bar{X}) и его ошибку (m_x), среднее квадратичное отклонение (σ), коэффициент вариации (C_v). Характер распределения

Таблица 1. Краткая характеристика сообществ ценопопуляций *Anemone jenseensis*
 Table 1. Brief description of communities with *Anemone jenseensis* coenoporulations

№ ц/п Соеноро- pulation number	Фитоценоз; местоположение Phytocoenosis; location	Состав древостоя; сомкнутость крон (%) Stand composition; crown density (%)	Доминирующие виды травяного яруса Dominants of the grass cover
Западный Саян/Western Sayan			
Aj1	Сосняк орляково-разнотравный (долина р. Уй, окр. пос. Майна, Республика Хакасия) Pine forest with bracken and grass cover (Uy River valley, Mauna village, Republic of Khakassia)	9С1Б <i>Pinus sylvestris</i> — 90% <i>Betula pendula</i> — 10%, 0.4–0.5	<i>Carex lasiocarpa</i> (30%) <i>Aconitum barbatum</i> (20%) <i>Anemone jenseensis</i> (10%) <i>Calamagrostis arundinacea</i> (10%) <i>Pteridium pinetorum</i> (5%)
Aj2	Березово-сосновый лес орляково-разнотравно-злаковый (окр. с. Ермаковское, Ермаковский р-н, Красноярский край) Birch-pine forest with bracken and mixed herb-grass cover (Yermakovskoye village, Krasnoyarsk Territory)	4Б6С <i>Pinus sylvestris</i> — 60% <i>Betula pendula</i> — 40%, 0.5	<i>Calamagrostis arundinacea</i> (30%) <i>Pteridium pinetorum</i> (25%) <i>Brunnera sibirica</i> (10%) <i>Anemone jenseensis</i> (1%)
Aj3	Березово-сосновый лес хвощово-разнотравный (д. Григорьевка, Ермаковский р-н, Красноярский край) Birch-pine forest with horsetail and mixed herb cover (Grigoryevka village, Krasnoyarsk Territory)	8С2Б <i>Pinus sylvestris</i> — 80% <i>Betula pendula</i> — 20%, 0.7	<i>Equisetum sylvaticum</i> (20%) <i>Brachypodium pinnatum</i> (15%) <i>Agrimonia pilosa</i> (8%) <i>Anemone jenseensis</i> (5%) <i>Brunnera sibirica</i> (4%)
Aj4*	Луг злаково-орляковый (окр. д. Осиновка, Ермаковский р-н, Красноярский край) Meadow with grasses and bracken cover (Osinovka village, Krasnoyarsk Territory)	Древостой отсут- ствует Forest stand absent	<i>Pteridium pinetorum</i> (60%) <i>Calamagrostis obtusata</i> (60%) <i>Dactylis glomerata</i> (15%) <i>Anemone jenseensis</i> (1%)
Aj5	Пойменный ивняк широколиственно-страусениковый (окр. п. Танзыбей (Червизюльский тракт, 3-й км), Ермаковский р-н, Красноярский край) Willow floodplain forest with broad-leaved grasses and ostrich fern cover (Tanzubey village (Chervizyul'skiy road, 3rd km), Krasnoyarsk Territory)	Древостой отсут- ствует Forest stand absent	<i>Matteuccia struthiopteris</i> (70%) <i>Brunnera sibirica</i> (20%) <i>Anemone baicalensis</i> (10%) <i>Anemone jenseensis</i> (2%)
Aj6	Березово-сосновый лес папоротниково-широколиственный (окр. д. Осиновка, Ермаковский р-н, Красноярский край); Birch-pine forest with fern and broad-leaved herb cover (Osinovka village, Krasnoyarsk Territory)	6С4Б <i>Pinus sylvestris</i> — 60% <i>Betula pendula</i> — 40%, 0.5	<i>Brunnera sibirica</i> (60%) <i>Pteridium pinetorum</i> (40%) <i>Athyrium monomachii</i> (15%) <i>Matteuccia struthiopteris</i> (10%) <i>Viola uniflora</i> (5%) <i>Anemone jenseensis</i> (1%)

Таблица 1. Окончание

№ ц/п Соеноро- pulation number	Фитоценоз; местоположение Phytocoenosis; location	Состав древостоя; сомкнутость крон (%) Stand composition; crown density (%)	Доминирующие виды травяного яруса Dominants of the grass cover
Аj7	Березово-еловый лес разноотравно-осочковый (окр. с. Усинское (пойма р. Иджим), Красноярский край); Birch-spruce forest with mixed herb and sedge cover (Usinskoye village (Idzhim River valley), Krasnoyarsk Territory)	8Б2Е <i>Betula pendula</i> – 80% <i>Picea obovata</i> – 20%, 0.5	<i>Carex cespitosum</i> (40%) <i>Deschampsia cespitosa</i> (10%) <i>Filipendula ulmaria</i> (8%) <i>Viola uniflora</i> (7%) <i>Anemone jenseensis</i> (1%)
Восточный Саян/Eastern Sayan			
Аj8	Осиново-березовый лес широкоотравно-страусниковый (пойма р. Лалетина, возле заповедника “Столбы”, окр. г. Красноярск, Красноярский край) Aspen-birch forest with broad-leaved herb and ostrich fern cover (Laletina River valley, Stolby Nature Reserve, Krasnoyarsk, Krasnoyarsk Territory)	8Б2Ос <i>Betula pendula</i> – 80% <i>Populus tremula</i> – 20%, 0.4–0.5	<i>Matteuccia struthiopteris</i> (15%) <i>Heraclium dissectum</i> (10%) <i>Corydalis bracteata</i> (10%) <i>Anemone jenseensis</i> (2%)
Красноярская лесостепь/Krasnoyarsk forest-steppe			
Аj9	Березово-осиновый лес разноотравно-орляковый (Николаевская сопка, г. Красноярск, Красноярский край) Birch-aspen forest with mixed herb and bracken fern cover (Nikolaevskaya Sopka, Krasnoyarsk, Krasnoyarsk Territory)	6Ос4Б <i>Populus tremula</i> – 60% <i>Betula pendula</i> – 40%, 0.5–0.6	<i>Pteridium pinetorum</i> (60%) <i>Carex macroura</i> (15%) <i>Brachypodium pinnatum</i> (10%) <i>Anemone jenseensis</i> (1%)
Аj10*	Луг высокоотравно-злаковый (окр. ст. Рябинино, окр. г. Красноярск, Красноярский край) Meadow with tall herb and grass cover (Ryabinino railway station, Krasnoyarsk, Krasnoyarsk Territory)	Древостой отсут- ствует Forest stand absent	<i>Poa pratensis</i> (30%) <i>Dactylis glomerata</i> (30%) <i>Trollius asiaticus</i> (25%) <i>Filipendula ulmaria</i> (20%) <i>Anemone jenseensis</i> (3%)

Примечание. Здесь и далее по тексту звездочкой помечены антропогенно-нарушенные местообитания.
Note. Hereinafter, the anthropogenically disturbed habitats are marked with an asterisk.

значений признаков ветреницы енисейской оценивали с помощью коэффициентов асимметрии и эксцесса. Выявлено, что для изучаемых нами параметров характерно распределение, близкое к нормальному. Внутрипопуляционную изменчивость признаков оценивали с помощью коэффициента вариации (C_v), поскольку данный параметр позволяет сравнивать признаки, имеющие различные размерности (Schmidt, 1984), кроме того, для коэффициента вариации С.А. Мамаевым (Мамаев, 1972) разработана шкала уровней изменчивости. Для установления достоверных различий между среднепопуляционными значениями одноименных признаков *A. jennisseensis* использовался однофакторный дисперсионный анализ. Различие считалось достоверным при уровне значимости $p < 0.05$. Анализ сходства ценопопуляций по исследуемым признакам проводили с помощью кластерного анализа. В обработке применялся метод Уорда (Ward, 1963). В качестве меры сходства использовали Евклидово расстояние.

Генетическую вариабельность ценопопуляций вида изучали с помощью ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeat) метода, выявляющего полиморфизм межмикросателлитных последовательностей ДНК. Из каждой популяции было проанализировано 10 растений, не являющихся клонами. Геномную ДНК выделяли из 10 мг материала, высушенного в силикагеле, с использованием набора DiamondDNA (ООО "АБТ", Россия). Для ПЦР использовали смесь БиоМастерHS-Тaq ПЦР-Color 2x(ООО "Биолаб-микс", г. Новосибирск).

ISSR-PCR проводили в 20 мкл смеси (6 мкл H_2O ; 10 мкл смеси БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color 2x, 2 мкл ДНК; 2 мкл 10 мМ праймера) на амплификаторе С1000 Thermal Cycler BioRad с использованием реактивов производства ООО "Биолаб-Микс" (г. Новосибирск) и ЗАО "Евроген" (г. Москва). Амплификацию проводили по следующей программе: $95^{\circ}C - 5$ мин; 13 циклов: $95^{\circ}C - 20$ сек, $55^{\circ}C - 45$ сек с последующим понижением температуры на $0.7^{\circ}C$ в каждом цикле, $72^{\circ}C - 90$ сек; 25 циклов: $95^{\circ}C - 20$ сек, $44^{\circ}C - 30$ сек, $72^{\circ}C - 90$ сек; завершающая стадия: $72^{\circ}C - 10$ мин, охлаждение при $4^{\circ}C$. Предварительно на 2 образцах ДНК из имеющегося набора праймеров (Mansour et al., 2009; Paterson et al., 2009) опытным путем были выявлены те, которые дают воспроизводимый полиморфный результат. Анализ продуктов амплификации осуществляли в проходящем ультрафиолетовом свете с помощью системы гель-документирования и анализа изображений Bio-Rad Gel Doc XR (Bio-Rad, USA).

Для количественной оценки степени полиморфизма и определения уровня дивергенции между изучаемыми популяциями полученные

данные были представлены в виде матрицы бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие ISSR-ПЦР фрагментов одинакового размера рассматривалось как состояние 1 или 0 соответственно. При этом учитывали только воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты. Обработку результатов анализа проводили с помощью пакета программ TFPGA version 1.3 (Miller, 1997) (UPGMA-анализ, бутстреп-тест и расчет генетических дистанций Рейнольда) и Popgene version 1.32 (процент полиморфных локусов (P), генетическое разнообразие Нея (I), информационный индекс Шеннона (h), генетические дистанции Нея (D), показатель подразделенности популяций (G_{st})).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке фитоценотической приуроченности выявлено, что ветреница енисейская в Восточном, Западном Саяне и в окр. г. Красноярска распространена в березовых, осиновых, сосновых и смешанных лесах, а также в поймах рек и на вырубках. Проективное покрытие *A. jennisseensis* в растительных сообществах варьирует от 1 до 10%. Максимальное значение данного показателя имеет в западносаянском сосняке орляково-разнотравном (Aj1, 10%). Также относительно высокие показатели численности ветреницы были зафиксированы в березово-сосновом лесу хвощово-разнотравном (Aj3, 5%, Западный Саян). На вырубке сосняка со следами пожара (Aj4*) отмечено резкое снижение проективного покрытия особей вида до 1%. В растительных сообществах вид выполняет роль ассектатора.

Среднее количество побегов ветреницы енисейской на $1 m^2$ варьирует от 15 до 31 шт. Максимальная плотность *A. jennisseensis* зафиксирована для ЦП, произрастающей в окр. г. Красноярска (Aj9) — 30.7 ± 5.7 шт./ m^2 . В осиново-березовом лесу (Aj8) отмечено 24.2 ± 5.8 побегов на $1 m^2$. Минимальное число побегов было выявлено на вырубке под ЛЭП (Aj10*, 14.6 ± 4.1 шт./ m^2) и в березово-сосновом лесу орляково-разнотравно-злаковом в окр. с. Ермаковского, Западный Саян (Aj2, 15 ± 2.5 шт./ m^2).

В результате изучения внутрипопуляционной изменчивости установлено, что большинство вегетативных признаков вида характеризуются средним и высоким уровнями изменчивости, согласно шкале С.А. Мамаева (Мамаев, 1972). Наименее изменчивыми признаками для побегов ветреницы являются длина стебля, длина цветоноса, длина черешка, длина центрального и бокового сегментов листа, форма центрального сегмента листа (рис. 2). Высокой степенью варьирования характеризуются степень и характер рассеченности центрального и боковых сегментов листа — от

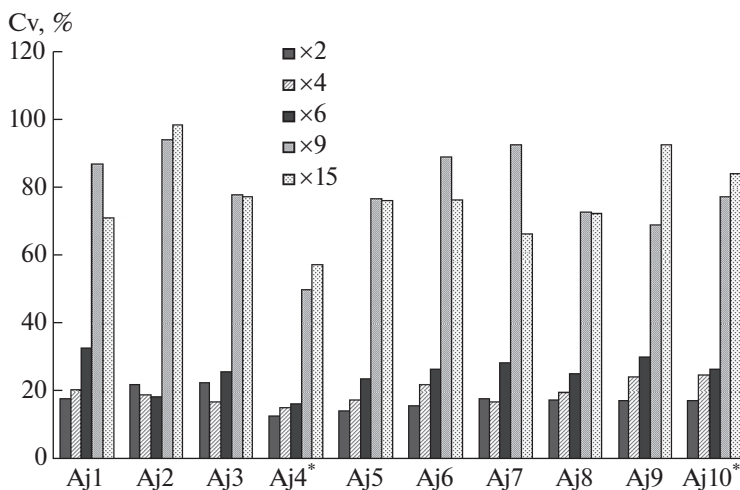


Рис. 2. Внутрипопуляционная изменчивость морфологических признаков *Anemone jenseensis*: x2 – длина цветоноса, x4 – длина центрального сегмента листа, x6 – форма центрального сегмента листа, x9 – степень расчленения центрального сегмента, x15 – степень расчленения бокового сегмента.

Fig. 2. Intrapopulation variability of morphological characters of *Anemone jenseensis*: x2 – peduncle length, x4 – central leaf segment length, x6 – central leaf segment shape, x9 – degree of incision of the central leaf segment, x15 – degree of incision of the lateral leaf segment.



Рис. 3. Особи ветреницы енисейской с разной степенью расчленения листовых пластинок (фото Н.В. Степанова).

Fig. 3. Plants of *Anemone jenseensis* with different degree of leaf blade incision (photo by N.V. Stepanov).

почти цельных до раздельных (рис. 3). Причем растения с разными типами расчленения листьев могут встречаться в пределах одной ценопопуляции. Три западносааянские ЦП (Aj1, Aj4* и Aj6) характеризуются глубоко расчлененными боковыми сегментами листьев.

Наибольшими размерами осевых органов (x1-x3) характеризуются особи, произрастающие в сосновых сообществах Западного Саяна (табл. 2): в сосняке орляково-разнотравном (Aj1), березово-сосновом лесу орляково-разнотравно-злаковым (Aj2) и березово-сосновом лесу хвощово-разнотравном (Aj3). Например, длина стебля у особей ЦП Aj2 составляет 23.38 см, а длина цветоноса – 5.49 см. Максимальные размеры листьев зафиксированы для западносааянских ЦП Aj3 и Aj5, а также для Aj9, находящейся в окр. г. Краснояр-

ска. Минимальные показатели всех вегетативных признаков характерны для растений ветреницы енисейской, произрастающих на вырубке под ЛЭП (Aj10*) (табл. 2).

Высокие показатели реальной семенной продуктивности *A. jenseensis* отмечены для ЦП Aj5 (пойменный ивняк широколиственно-страусниковый, Западный Саян), где количество завязавшихся плодов составляет 27.4 шт., а коэффициент семенификации равен 74.6% (табл. 3). Для ЦП Aj10*, произрастающей на вырубке под ЛЭП, сравнительно низкие значения морфологических параметров сочетаются с относительно высокими показателями семенной продуктивности, численности и средним уровнем внутрипопуляционной изменчивости, что свидетельствует о длительно действующих однотипных стрессовых

Таблица 2. Среднепопуляционные значения признаков *Anemone jensisensis*
Table 2. Average population values of *Anemone jensisensis* characters

	Aj1	Aj2	Aj3	Aj4*	Aj5	Aj6	Aj7	Aj8	Aj9	Aj10*
Длина стебля, см ($\times 1$) Stem length, cm ($\times 1$)	23.20 \pm 0.6	23.38 \pm 0.56	23.04 \pm 0.63	18.35 \pm 0.53	22.75 \pm 0.48	22.34 \pm 0.48	21.27 \pm 0.58	18.29 \pm 0.62	21.62 \pm 0.68	20.66 \pm 0.58
Длина цветоноса, см ($\times 2$) Peduncle length, cm ($\times 2$)	4.32 \pm 0.14	5.49 \pm 0.22	5.26 \pm 0.22	4.94 \pm 0.12	5.65 \pm 0.15	5.66 \pm 0.16	5.92 \pm 0.19	4.24 \pm 0.14	4.43 \pm 0.14	4.29 \pm 0.14
Длина черешка, см ($\times 3$) Petiole length, cm ($\times 3$)	0.61 \pm 0.02	0.69 \pm 0.03	0.6 \pm 0.02	0.64 \pm 0.03	0.73 \pm 0.03	0.75 \pm 0.03	0.6 \pm 0.03	0.58 \pm 0.02	0.5 \pm 0.03	0.58 \pm 0.02
Длина центрального сегмента листа, см ($\times 4$) Central leaf segment length, cm ($\times 4$)	5.31 \pm 0.2	5.02 \pm 0.18	5.91 \pm 0.18	4.66 \pm 0.13	5.41 \pm 0.17	5.02 \pm 0.2	4.53 \pm 0.14	4.91 \pm 0.18	5.36 \pm 0.24	3.52 \pm 0.16
Ширина центрального сегмента листа, см ($\times 5$) Central leaf segment width, cm ($\times 5$)	0.81 \pm 0.06	0.69 \pm 0.03	0.88 \pm 0.05	0.8 \pm 0.04	0.73 \pm 0.03	0.78 \pm 0.04	0.69 \pm 0.04	0.95 \pm 0.07	0.94 \pm 0.06	0.61 \pm 0.03
Глубина выреза на центральном сегменте, см ($\times 8$) Depth of central segment cut, cm ($\times 8$)	0.46 \pm 0.08	0.15 \pm 0.03	0.34 \pm 0.05	0.37 \pm 0.04	0.31 \pm 0.05	0.27 \pm 0.05	0.34 \pm 0.07	0.52 \pm 0.08	0.43 \pm 0.06	0.27 \pm 0.04
Степень расчленения централь- ного сегмента ($\times 9$) Degree of central segment incision ($\times 9$)	0.09 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01
Количество зубчиков, шт ($\times 10$) Number of teeth, pcs ($\times 10$)	7.23 \pm 0.37	5.10 \pm 0.52	7.70 \pm 0.64	7.27 \pm 0.46	7.47 \pm 0.47	7.93 \pm 0.7	6.07 \pm 0.33	6.57 \pm 0.4	6.37 \pm 0.41	5.73 \pm 0.34
Длина бокового сегмента листа, см ($\times 11$) Lateral leaf segment length, cm ($\times 11$)	4.90 \pm 0.2	4.66 \pm 0.19	5.45 \pm 0.18	4.11 \pm 0.11	4.95 \pm 0.16	4.67 \pm 0.19	3.91 \pm 0.14	4.47 \pm 0.18	4.88 \pm 0.26	3.36 \pm 0.11
Глубина выреза на боковом сег- менте, см ($\times 14$) Depth of lateral segment cut, cm ($\times 14$)	1.2 \pm 0.19	0.5 \pm 0.1	1 \pm 0.15	1.05 \pm 0.12	0.79 \pm 0.11	1.15 \pm 0.17	0.9 \pm 0.11	0.84 \pm 0.11	0.55 \pm 0.11	0.55 \pm 0.08
Степень расчленения бокового сегмента листа ($\times 15$) Degree of lateral leaf segment inci- sion ($\times 15$)	0.25 \pm 0.03	0.10 \pm 0.02	0.18 \pm 0.03	0.25 \pm 0.03	0.16 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.23 \pm 0.03	0.19 \pm 0.02	0.11 \pm 0.02	0.17 \pm 0.03
Длина лепестков, см ($\times 16$) Petals length, cm ($\times 16$)	0.91 \pm 0.03	0.73 \pm 0.04	0.74 \pm 0.02	0.83 \pm 0.05	—	0.78 \pm 0.04	0.69 \pm 0.03	0.94 \pm 0.03	0.94 \pm 0.04	0.68 \pm 0.02

Таблица 3. Среднепопуляционные значения показателей семенной продуктивности *Anemone jenseensis*
Table 3. Average population values of seed productivity of *Anemone jenseensis*

№ ц/п Соенорорупа- tion number	Реальная семенная продуктивность Actual seed productivity	Потенциальная семенная продуктивность Potential seed productivity	Коэффициент семенификации Seed productivity coefficient
Aj1	10.40 ± 3.52	26.47 ± 2.30	39.88 ± 14.06
Aj2	17.30 ± 1.57	28.37 ± 2.42	66.46 ± 4.09
Aj3	0	20.79 ± 2.12	0
Aj4*	17.36 ± 2.40	27.70 ± 2.07	56.84 ± 4.18
Aj5	27.43 ± 2.13	37.73 ± 2.56	74.60 ± 3.53
Aj6	14.54 ± 1.77	18.90 ± 1.55	64.91 ± 5.22
Aj7	16.45 ± 1.99	23.83 ± 2.24	68.79 ± 4.71
Aj8	17.60 ± 3.36	26.70 ± 2.42	47.37 ± 7.98
Aj9	14.69 ± 3.07	25.34 ± 2.51	47.02 ± 6.83
Aj10*	17.38 ± 1.78	27.17 ± 2.46	61.47 ± 4.90

Таблица 4. Полиморфизм межмикросателлитных фрагментов ДНК, амплифицированных ISSR-PCR методом
Table 4. Polymorphism of intermicrosatellite DNA fragments amplified by ISSR-PCR method

ISSR-праймeр ISSR primer	Последова- тельность Sequence	Общее число фрагментов Total number of fragments		Число полиморфных фрагментов ДНК (их частота) Number of polymorphic DNA fragments (frequency)						
		Всего Total	Полиморфных Polymorphic	Aj1	Aj3	Aj5	Aj6	Aj7	Aj8	Aj9
844В	(СТ) ₈ GC	14	14 (100%)	10	13	10	6	5	11	9
17898А	(СА) ₆ AC	19	19 (100%)	13	15	13	10	13	9	12
17898В	(СА) ₆ GT	23	23 (100%)	16	16	16	16	12	13	17
17899В	(СА) ₆ GG	18	17 (94.4%)	9	11	7	9	12	10	12
НВ8	(GA) ₆ GG	13	13 (100%)	8	3	8	7	3	8	9
НВ12	(CAC) ₃ GC	24	24 (100%)	15	21	16	15	17	21	19
Всего Total		111	111 (100%)	71 (63.96%)	79 (71.17%)	70 (63.06%)	63 (56.76%)	62 (55.86%)	69 (62.16%)	78 (70.27%)

условиях (табл. 2, 3, рис. 2). Минимальные показатели семенной продуктивности (18.9 плодов на генеративный побег), отмечены для ЦП Aj6 (березово-сосновый лес папоротниково-широко-травный, Западный Саян).

На дендрограмме сходства, построенной с помощью кластерного анализа, наблюдается разделение совокупности ЦП на 2 кластера (рис. 4). В первый кластер объединились подтаежные западносаянские ЦП Aj7 и Aj2, а также примкнувшая к ним Aj10*, произрастающая на вырубке под ЛЭП. Для особей данных ЦП отмечаются небольшие размеры листьев и слабое расчленение боковых сегментов. Второй кластер формируют два подкластера. Первый объединяет красноярские ЦП Aj8 и Aj9 с относительно крупным центральным сегментом листа. Боковой сегмент средних

размеров, слабо расчленен. Вторым подкластер образуют западносаянские ЦП, особи которых характеризуются крупными размерами вегетативных органов. Внутри данного подкластера наблюдается разделение на две группы по размерам и степени расчленения бокового сегмента листа. Для особей группы ЦП Aj1, Aj4* и Aj6 отмечаются крупные и глубоко расчлененные боковые сегменты.

Генетический полиморфизм ветреницы енисейской изучен на примере ЦП, произрастающих в лесах Западного Саяна (Aj1, Aj3, Aj5-Aj7), Восточного Саяна (Aj8) и Красноярской лесостепи (Aj9). В ходе анализа выявлено 111 фрагментов ДНК. Суммарный процент полиморфизма составляет 100. Число амплифицированных фраг-

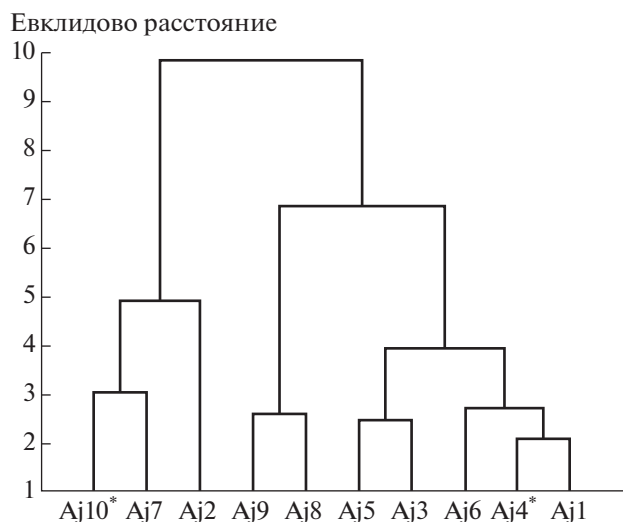


Рис. 4. Дендрограмма сходства ценопопуляций *Anemone jenseensis* по морфологическим признакам. Ось Y – Евклидово расстояние; ось X – ценопопуляции.

Fig. 4. Dendrogram of similarity of *Anemone jenseensis* coenopopulations by morphological characters. Y-axis – Euclidean distance; X-axis – coenopopulations.

ментов ДНК, в зависимости от праймера (табл. 4), варьировало от 13 (НВ8) до 24 (НВ12).

Уровень выявляемого внутривидового генетического разнообразия средний (55.86–71.17%). Показатели генетического полиморфизма максимальны в западносалянской ЦП Aj3 ($P = 71.17\%$; $I = 0.275$; $h = 0.404$) и красноярской Aj9 ($P = 70.27\%$; $I = 0.249$; $h = 0.373$). Средними показателями генетического разнообразия характеризуются западносалянские ЦП Aj1 ($P = 63.93\%$; $I = 0.209$; $h = 0.32$) и Aj5 ($P = 63.06\%$; $I = 0.204$; $h = 0.313$). Минимальные значения отмечены для Aj7 ($P = 55.86\%$; $I = 0.189$, $h = 0.287$).

Коэффициент подразделенности ЦП (G_{st}) составляет 0.3316. Следовательно, на долю межпопуляционного разнообразия приходится 33.16%, а изученные ЦП ветреницы демонстрируют очень высокую степень дифференциации (Wright, 1978). Генетические дистанции М. Нея

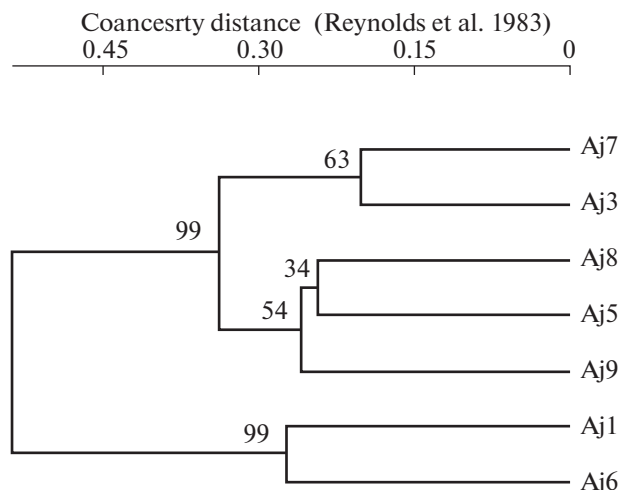


Рис. 5. Дендрограмма сходства ценопопуляций *Anemone jenseensis* на основе данных ISSR-PCR анализа (цифрами указаны значения бутстрепа в %).

Fig. 5. Dendrogram of similarity of *Anemone jenseensis* coenopopulations based on ISSR-PCR analysis data (the numbers indicate bootstrap values, %).

(Nei, 1972) минимальны между западносалянскими Aj7 и Aj3 ($D = 0.0892$). Максимальные расстояния зафиксированы между ЦП Aj6 и Aj7 ($D = 0.2788$) (табл. 5).

На UPGMA-дендрограмме сходства ЦП с высокой степенью достоверности выделяются два кластера (рис. 5). Первый кластер делится на два подкластера. В первый входят подтаежные западносалянские ЦП Aj3 и Aj7, во второй – красноярские Aj8 и Aj9 и западносалянская Aj5. Вторым кластером образуют популяции Aj1 и Aj6, произрастающие в сосняках Западного Саяна и характеризующиеся крупными рассеченными боковыми долями листа. Данные ЦП отличались от других и по морфологическим признакам (рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ состояния ЦП ветреницы енисейской показал, что изучаемый вид обладает относительно широким фитоценотическим

Таблица 5. Генетические дистанции Нея (1972) между ценопопуляциями *Anemone jenseensis* на основе ISSR-PCR
Table 5. Nei's genetic distances between *Anemone jenseensis* coenopopulation based on ISSR-PCR

№ ц/п Coenopopulation number	Aj1	Aj3	Aj5	Aj6	Aj7	Aj8
Aj3	0.2269					
Aj5	0.2024	0.1026				
Aj6	0.1068	0.2390	0.2397			
Aj7	0.2499	0.0892	0.1452	0.2788		
Aj8	0.2286	0.1154	0.0963	0.2494	0.1742	
Aj9	0.2113	0.1747	0.1184	0.2630	0.1901	0.1112

ареалом и может встречаться в мелколиственных (березовые, осиновые леса), светлохвойных (сосняки), смешанных лесах, в пойменных ивняках, а также на вырубках.

Максимальные размеры вегетативных органов, показатели семенной продуктивности, генетического разнообразия зафиксированы для ЦП *A. jensseensis*, произрастающих в лесах Западного Саяна (Аj3, Аj5) и Красноярской лесостепи (Аj9). На вырубке под ЛЭП (Аj10*) низкие значения морфологических параметров сочетаются с относительно высокими показателями семенной продуктивности, численности и средним уровнем изменчивости, что свидетельствует о длительно действующих стрессовых условиях.

ЦП *A. jensseensis* демонстрируют очень высокую степень генетической дифференциации ($G_{st} = 0.3316$). Важным диагностическим признаком, позволяющим разделить ЦП ветреницы енисейской, является степень расчленения сегментов листа. ЦП Аj1 и Аj6, характеризующиеся крупными расчлененными боковыми долями листа, формируют морфологически и генетически обособленную группу. Четкого разделения ценопопуляций по географическому принципу не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Вагукіна] Барыкина Р.П. 1995. Поливариантность способов естественного вегетативного размножения и расселения в семействе Ranunculaceae – Бюлл. МОИП. Отд. биол. 100 (1): 53–64.
- Cai Y., Li S.-W., Liu Y., Quan S., Chen M., Xie Y.-F., Jiang H.-Z., Wei E.-Z., Yin N.-W., Wang L., Zhang R., Huang C.-L., He X.-H., Jiang M.-F. 2009. Molecular phylogeny of Ranunculaceae based on internal transcribed spacer sequences. – Afr. J. Biotechnol. 8 (20): 5215–5224.
- [Дуугуягина, Иванова] Дюрягина Г.П., Иванова М.М. 1985. Характеристика ценопопуляций редких видов флоры Бурятии. – Бот. журн. 70 (11): 1529–1538.
- [Filiprov, Andronova] Филиппов Е.Г., Андронова Е.В. 2017. Генетическая структура популяций и естественная гибридизация *Dactylorhiza salina* и *D. incarnata* (Orchidaceae). – Генетика. 53 (3): 310–323.
- Jiang N., Zhou Z., Yang J.B., Zhang S.D., Guan K.Y., Tan Y.H., Yu W.B. 2017. Phylogenetic reassessment of tribe Anemoneae (Ranunculaceae): Non-monophyly of *Anemone* s.l. revealed by plastid datasets. – PLoS ONE. 12 (3): e0174792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174792>
- [Lufarov, Starodubtsev] Луферов А.Н., Стародубцев В.Н. 1995 Семейство лютиковые (Ranunculaceae). – В кн.: Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Т. 7. СПб. С. 9–145.
- [Мамаев] Мамаев С.А. 1972. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М. 284 с.
- [Marinicheva, Yamskikh] Мариничева А.Н., Ямских И.Е. 2017. Полиморфизм популяций *Anemone reflexa* (Ranunculaceae) в горах Южной Сибири. – Вестник КрасГАУ. 7 (130): 126–133.
- Mansour A., Ismail H.M., Ramadan M.F., Gyulai G. 2009. Variations in tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars grown under heat stress. – Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. 1.4: 118–127.
- Miller M.P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data.
- Mlinarec J., Satovic Z., Malenica N., Ivancic-Bace I., Besendorfer V. 2012. Evolution of the tetraploid *Anemone multifida* (2n = 32) and hexaploid *A. baldensis* (2n = 48) (Ranunculaceae) was accompanied by rDNA loci loss and intergenomic translocation: evidence for their common genome origin. – Ann. Bot. 110 (3): 703–712. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs128>
- Nei M. 1972. Genetic Distance between Populations. – Am. Nat. 106: 283–292.
- Paterson I.D., Downie D.A., Hill M.P. 2009. Using molecular methods to determine the origin of weed populations of *Pereskia aculeata* in South Africa and its relevance to biological control. – Biol. Control. 1.48: 84–91.
- [Попов] Попов М.Г. 1957. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). – В кн.: Флора Средней Сибири. Т. 1. М., Л. С. 250–274.
- [Red...] Красная книга Иркутской области. 2010. Иркутск. 478 с.
- [Schmidt] Шмидт В.М. 1984. Математические методы в ботанике. – Л. 288 с.
- Schuettpelz E., Hoot S.B., Samuel R., Ehrendorfer F. 2001. Multiple origins of Southern Hemisphere *Anemone* (Ranunculaceae) based on plastid and nuclear sequence data. – Plant Syst. Evol. 231: 143–151.
- Sun M., Yin X., Shi F., Li L., Li M., Li L., Xiao H. 2012. Development of Eighteen Microsatellite Markers in *Anemone amurensis* (Ranunculaceae) and Cross-Amplification in Congeneric Species. – Int. J. Mol. Sci. 13: 4889–4895. <https://doi.org/10.3390/ijms13044889>
- [Timokhina] Тимохина С.А. 1993. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). – В кн.: Флора Сибири. Т. 6. Новосибирск. С. 145–149.
- [VoronoV] Воронов А.Г. 1973. Геоботаника. 384 с.
- Ward J.H.Jr. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. – Journal of the American Statistical Association. 58: 236–244.
- Wright S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations: Variability within and among natural populations. – University of Chicago Press. 4: 590.
- [Yamskikh et al.] Ямских И.Е., Куцев М.Г., Уварова О.В. 2011. Полиморфизм популяций *Anemonoides altaica* (С.А. Мей.) Holub в горах Южной Сибири на основе морфологических данных и ISSR-PCR анализа. – Turczaninowia. 14 (1): 8–16.
- [Yuzerchuk] Юзепчук С.В. 1937. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). – В кн.: Флора СССР. Т. 7. М., Л. С. 225–282.
- Zhang Y., Hong Y., Ren C., Ming T., Hoot S.B., Yang Q.E. 2015. Palynology, cytology, and molecular systematics of *Anemone* section *Begoniifolia* (Ranunculaceae). – Plant Syst. Evol. 301 (1): 411–424. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1082-0>

MORPHOLOGICAL AND GENETIC VARIABILITY OF *ANEMONE JENISSEENSIS* (RANUNCULACEAE) COENOPOPULATIONS IN THE SOUTHERN YENISEI AREA (SIBERIA)

A. N. Marinicheva^{a, #}, I. E. Yamskikh^a, N. V. Stepanov^a, and M. G. Kutsev^{a, b}

^a Siberian Federal University

Svobodnyy Ave., 79, Krasnoyarsk, 660041, Russia

^b Altai State University

Lenina Ave., 61, Barnaul, 656049, Russia

[#] e-mail: alexandra.marinicheva@outlook.com

The genetic variability and phenotypic plasticity of 10 natural coenopopulations of the Siberian endemic *Anemone jensseensis* (Korsh.) Krylov, which grows in plant communities of the Krasnoyarsk forest-steppe, Western and Eastern Sayan, were studied. The species has been established to have a relatively wide phytocenotic range and occurs in small-leaved forests (birch, aspen forests), light coniferous (pine) forests, mixed forests, in floodplain willow stands, and on cuttings. The average number of shoots per 1 m² varies from 15 to 31. The maximum sizes of vegetative organs, indices of seed productivity and genetic diversity of the species were observed in the subtaiga forests of the Western Sayan and in the Krasnoyarsk forest-steppe. A significant decrease in the morphological characters of *A. jensseensis* was noted in the cutted areas; the level of intrapopulation phenotypic plasticity and seed productivity indices, however, vary within the average values.

The genetic variability of the *A. jensseensis* coenopopulations was studied using the ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeats) method. The total percentage of polymorphic loci is 100. The studied coenopopulations are characterized by the average level of intrapopulation genetic diversity (55.86–71.17%) and a very high degree of differentiation ($G_{st} = 0.3316$). The similarity dendrograms based on morphological and genetic data reliably distinguish a group of coenopopulations characterized by large, deeply divided lateral segments of leaves. Geographical separation of the coenopopulations was not identified.

Keywords: *Anemone jensseensis*, endemic species, morphological and genetic analyses, coenopopulations, ISSR-PCR, genetic diversity, Southern Siberia, Krasnoyarsk Territory, Khakassia

REFERENCES

- Barykina R.P. 1995. Polivariantnost sposobov yestestvennogo vegetativnogo razmnozheniya i rasseleniya v semeystve Ranunculaceae [Polyvariance of methods of natural vegetative propagation and settlement in the Ranunculaceae family]. – Bull. MOIP. Otd. biol. 100 (1): 53–64 (In Russ.).
- Cai Y., Li S.-W., Liu Y., Quan S., Chen M., Xie Y.-F., Jiang H.-Z., Wei E.-Z., Yin N.-W., Wang L., Zhang R., Huang C.-L., He X.-H., Jiang M.-F. 2009. Molecular phylogeny of Ranunculaceae based on internal transcribed spacer sequences. – Afr. J. Biotechnol. 8 (20): 5215–5224.
- Dyuryagina G.P., Ivanova. M.M. 1985. Kharakteristika tse-nopopulyatsii redkikh vidov flory Buryatii [Characteristics of coenopopulations of rare species in the Buryatian flora]. – Botanicheskii zhurnal. 70 (11): 1529–1538 (In Russ.).
- Filippov E.G., Andronova E.V. 2017. Genetic structure of populations and natural hybridization between *Dactylorhiza salina* and *D. incarnata* (Orchidaceae). – Russian Journal of Genetics. 53 (3): 325–337.
- Jiang N., Zhou Z., Yang J.B., Zhang S.D., Guan K.Y., Tan Y.H., Yu W.B. 2017. Phylogenetic reassessment of tribe Anemoneae (Ranunculaceae): Non-monophyly of *Anemone* s.l. revealed by plastid datasets. – PLoS ONE. 12 (3): e0174792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174792>.
- Luferov A.N., Starodubtsev V.N. 1995. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculaceae Juss.]. – In: Vascular plants of the Soviet Far East. Vol. 7. St. Petersburg. P. 9–145 (In Russ.).
- Mamaev S.A. 1972. Formy vnutrividovoy izmenchivosti drevesnykh rasteniy [Forms of intraspecific variability of woody plants]. Moscow. 284 p. (In Russ.).
- Mansour A., Ismail H.M., Ramadan M.F., Gyulai G. 2009. Variations in tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars grown under heat stress. – Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. 1.4: 118–127.
- Marinicheva A.N., Yamskikh I.E. 2017. Polimorfizm populyacij *Anemone reflexa* (Ranunculaceae) v gorah Yuzhnoj Sibiri [Polymorphism of *Anemone reflexa* (Ranunculaceae) populations in the mountains of Southern Siberia]. – Vestnik KrasGAU. 7 (130): 126–133 (In Russ.).
- Miller M.P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data.
- Mlinarec J., Satovic Z., Malenica N., Ivancic-Bace I., Besendorfer V. 2012. Evolution of the tetraploid *Anemone multifida* (2n = 32) and hexaploid *A. baldensis* (2n = 48) (Ranunculaceae) was accompanied by rDNA loci loss and intergenomic translocation: evidence for their common genome origin. – Ann. Bot. 110 (3): 703–712. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs128>
- Nei M. 1972. Genetic Distance between Populations. – Am. Nat. 106: 283–292.

- Paterson I.D., Downie D.A., Hill M.P. 2009. Using molecular methods to determine the origin of weed populations of *Pereskia aculeata* in South Africa and its relevance to biological control. — Biol. Control. 1.48: 84–91.
- Popov M.G. 1957. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculaceae Juss.]. — In: Flora srednei Sibiri [Flora of Central Siberia] T. 1. Moscow; Leningrad. P. 250–274 (In Russ.).
- Red data book of nature of the Irkutsk region. 2010. Irkutsk. 478 p. (In Russ.).
- Schmidt V.M. 1984. Matematicheskiye metody v botanike [Mathematical Methods in Botany]. Leningrad. 288 p. (In Russ.).
- Schuettpelz E., Hoot. S.B., Samuel R., Ehrendorfer F. 2001. Multiple origins of Southern Hemisphere *Anemone* (Ranunculaceae) based on plastid and nuclear sequence data. — Plant Syst. Evol. 231: 143–151.
- Sun M., Yin X., Shi F., Li L., Li M., Li L., Xiao H. 2012. Development of Eighteen Microsatellite Markers in *Anemone amurensis* (Ranunculaceae) and Cross-Amplification in Congeneric Species. — Int. J. Mol. Sci. 13: 4889–4895. <https://doi.org/10.3390/ijms13044889>
- Timokhina S.A. 1993. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculaceae Juss.]. — In: Flora of Siberia. T.6. Novosibirsk. P. 145–149 (In Russ.).
- Voronov A.G. 1973. Geobotanika [Geobotany]. 384 p. (In Russ.).
- Ward J.H.Jr. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. — Journal of the American Statistical Association. 58: 236–244.
- Wright S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations: Variability within and among natural populations. — University of Chicago Press. 4: 590.
- Yamskikh I.E., Kutsev M.G., Uvarova O.V. 2011. Polymorphism of *Anemonoides altaica* (C.A. Mey.) Holub Populations in the South Siberia Mountains based on morphological data and ISSR-PCR analysis. — Turczaninowia. 14 (1): 8–16 (In Russ.).
- Yuzepchuk S.V. 1937. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculaceae Juss.]. — In: Flora SSSR. T.7. Moscow, Leningrad. P. 225–282 (In Russ.).
- Zhang Y., Hong Y., Ren C., Ming T., Hoot S.B., Yang Q.E. 2015. Palynology, cytology, and molecular systematics of *Anemone* section *Begoniifolia* (Ranunculaceae). — Plant Syst. Evol. 301 (1): 411–424. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1082-0>