

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра геномики и биоинформатики

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_

подпись

инициалы, фамилия

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Сравнительный морфолого-генетический анализ видов рода *Erythronium* в  
горах Южной Сибири

\_\_\_\_\_

тема

06.04.01 Биология

\_\_\_\_\_

код и наименование направления

06.04.01.06. Геномика и биоинформатика

\_\_\_\_\_

код и наименование магистерской программы

Руководитель

\_\_\_\_\_

подпись, дата

профессор, д.б.н.

\_\_\_\_\_

должность, ученая степень

Ямских И.Е.

\_\_\_\_\_

фамилия инициалы,

Выпускник

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Кучма Е.А.

\_\_\_\_\_

фамилия инициалы,

Рецензент

\_\_\_\_\_

подпись, дата

\_\_\_\_\_

должность, ученая степень

Тихонова И.В.

\_\_\_\_\_

фамилия инициалы,

Красноярск, 2024

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Сравнительный морфолого-генетический анализ видов рода *Erythronium* в горах Южной Сибири» содержит: 62 страницы текстового документа, 14 иллюстраций, 13 таблиц, 47 литературных источников, 2 приложения.

*ERYTHRONIUM SAJANENSE*, *ERYTHRONIUM SIBIRICUM*, *ERYTHRONIUM SULEVII*, МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, *MATK*, *RBCL*, *PSBA-TRNH*, *TRNL-TRNF*, *ITS*.

Целью данной работы являлось изучение генетического и морфологического полиморфизма популяций и филогении видов рода *Erythronium*, произрастающих в горах Южной Сибири

В результате исследования определена видовая обособленность *E. sajanense* по таким морфологическим параметрам как длина цветоноса, форма тычиночных нитей, размер рыльца столбика и окрас лепестков. Установлена высокая генетическая дифференциация между тремя исследованными видами кандыка. Выявлены наиболее информативные маркеры идентификации видов рода *Erythronium*: *ITS*-регионы и хлоропластные маркеры *psbA-trnH* и *trnL-trnF*. На основании данных маркеров, показана генетическая обособленность *E. sajanense* от других видов, и отличия в нуклеотидной последовательности между *E. sulevii* и *E. sibiricum*.

## СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ .....	2
ВВЕДЕНИЕ .....	4
1. Обзор литературы .....	6
1.1 Характеристика видов р. <i>Erythronium</i> .....	6
1.1.1 <i>Erythronium sibiricum</i> - кандык сибирский .....	7
1.1.2 <i>Erythronium sajanense</i> – кандык саянский .....	9
1.1.3 <i>Erythronium sulevii</i> – кандык Сулева .....	10
1.2. ISSR-анализ полиморфизма ДНК .....	11
1.3 Молекулярные маркеры растений для филогенетического анализа .....	12
1.4 Филогения рода <i>Erythronium</i> .....	17
2. Районы и методы исследования .....	21
2.1. Характеристика районов исследования .....	21
2.2. Объекты исследования .....	25
2.3. Методика исследований .....	27
3. Результаты и обсуждения .....	33
3.1. Морфологический анализ видов рода <i>Erythronium</i> .....	33
3.2. Анализ сходства популяций <i>E. sajanense</i> , <i>E. sibiricum</i> , <i>E. sulevii</i> .....	36
3.2. ISSR–PCR анализ генетического разнообразия популяций кандыков .....	39
3.4. Филогенетический анализ видов рода <i>Erythronium</i> .....	44
Обсуждение .....	50
Заключение .....	53
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	54
Приложение А .....	59
Приложение Б .....	61

## ВВЕДЕНИЕ

*Erythronium*, или кандык - легко узнаваемый род, относящийся к семейству Liliaceae. В Южной Сибири распространены 4 вида кандыка: *Erythronium sibiricum* (Fisch. et Mey) Krylov, *Erythronium sajanense* Stepanov et Stassova, *Erythronium sulevii* (Rukšāns) Stepanov, *Erythronium krylovii* Stepanov.

*E. sulevii* впервые был описан Я. Рукшансом, в 2007 году как подвид кандыка сибирского, а *E. krylovii*, как подвид кандыка алтайского [1]. В 2011 году данные подвиды были возведены в статус вида Н.В. Степановым и В.В. Стасовой [2]. Но до сих пор не все исследователи признают новое таксономическое положение *E. sajanense*, *E. sulevii* и *E. krylovii*. Так, например, ни один из этих видов не был включен в последнюю монографию Clennett С. «The Genus *Erythronium*» (2014) [3].

Объектом исследований являются 3 вида р. Кандык: *E. sibiricum*, *E. sajanense* *E. sulevii*. Данные виды являются эфемероидами, и, следовательно, обладают уникальными адаптациями к жизни в условиях сезонного изменения окружающей среды. Данные виды широко используются в букетах и в ландшафтном дизайне из-за их эстетически привлекательного вида, а их луковицы используются в качестве пищевого продукта. Это приводит к уменьшению популяций этих растений и угрожает их существованию. Поэтому охрана растений рода *Erythronium* и других эфемероидов имеет важное значение для сохранения биоразнообразия. Так, кандык сибирский занесён в Красную книгу Новосибирской области (2008) со статусом 2V, также он является редким видом Томской (2002), Кемеровской областей (2008), Красноярского края (2005, 2022), республики Тыва (1999), Казахстана (2007), Алтайского края (1998). Кандык саянский занесен в «Красную книгу Красноярского края» (2022), как уязвимый вид.

Для полной объективной оценки состояния популяций изучаемых видов и организации охранной деятельности необходимо проведение морфолого-

генетического анализа с целью выявления их таксономической и популяционно-видовой структуры, морфолого-генетической дифференциации, механизмов устойчивости, типа функционирования в связи с существующими и возможными факторами угрозы.

Цель: Изучение генетического и морфологического полиморфизма популяций и филогении видов рода *Erythronium*, произрастающих в горах Южной Сибири.

Задачи:

1. Провести анализ морфологической изменчивости признаков популяции видов рода *Erythronium*.
2. Изучить генетический полиморфизм популяции близкородственных видов кандыков с использованием ISSR маркеров.
3. Оценить степень дивергенции *E. sibiricum*, *E. sajanense* и *E. sulevii*.
4. Изучить филогенетическое сходство *E. sibiricum*, *E. sajanense* и *E. sulevii* с помощью ядерных и хлоропластных маркеров.

## 1. Обзор литературы

### 1.1 Характеристика видов р. *Erythronium*

А. Л. Тахтаджян в 1987 году указал, что род *Erythronium* из трибы Tulipaeae относится к семейству Liliaceae [4]. Лилейные в основном распространены в Северном полушарии в умеренных зонах Восточной Азии и Северной Америки и включают 15 родов и более 600 видов, многие из которых являются декоративными. Представители данного семейства принадлежат к лепестковидным однодольным и обычно характеризуются, как травянистые растения с луковицами или корневищем, цветками с шестью лепестковидными листочками околоцветника, шестью тычинками и верхней завязью [5].

*Erythronium* L., или Кандык - легко узнаваемый род [6]. *Erythronium* известен в Европе на протяжении многих веков, а в Северной Америке - почти 200 лет [7]. Согласно последним данным род включает 34 вида [4].

Представители рода *Erythronium* являются ранневесенними цветущими декоративными геофитами, произрастающими в лиственных лесах, на опушках хвойных лесов и в мезофитных луговых местообитаниях в широком диапазоне высот Северного полушария [7, 8].

Зрелые растения разных видов вырастают из яйцевидной или удлинённой луковицы, образуя пару прикорневых листьев и от одного до нескольких цветков на тонком стебле. Виды различаются по ряду признаков, включая окраску цветка, характер пятнистости листьев, количество цветков, характеристики семян, некоторые аспекты морфологии цветка и склонность к вегетативному размножению. Эти различия отражают как текущую адаптацию, так и эволюционную историю группы. Плезеоморфные (предковые) признаки *Erythronium* включают одиночные актиноморфные цветки, тонкие удлинённые доли рыльца, линейные тычиночные нити, отсутствие столонов и элайосом. Некоторые особенности связаны с географическими регионами [6].

Молекулярный анализ показывает, что данный род тесно связан с родами *Tulipa* L. и *Amana* Honda. У всех видов короткий вегетационный период,

особенно у тех, что произрастают на больших высотах, где они развиваются в зоне таяния снега. Рост, цветение и образование семян происходят в течение нескольких недель, и растения впадают в период покоя по мере повышения температуры и уменьшения количества воды в корневой зоне. Луковицы покрыты оболочкой и внешне похожи на луковицы тюльпана, и поэтому у некоторых таксонов могут образовываться столоны, способствующие быстрому клональному распространению. В отличие от большинства родов семейства *Liliaceae*, листья у *Erythronium* могут быть однотонно-зелеными или отмечаться более темной окраской. У некоторых евразийских и восточно-североамериканских видов часто наблюдаются случайные пятна на листьях, обычно это выражается, как пурпурно-коричневая окраска со случайными вкраплениями и пятнами зеленого цвета. Стоит отметить, что пятнистость исчезает после цветения, а в некоторых случаях это может произойти до его завершения, так что гербарные образцы часто не проявляют этого признака. Листья кандыков варьируются по очертаниям от яйцевидных до ланцетных [7, 9].

С биogeографической точки зрения род имеет несколько хорошо поддерживаемых, географически согласованных клад, приуроченных к Евразии, западной части Северной Америки и восточной части Северной Америки. В пределах Евразии традиционно признанные виды – *E. dens-canis* L., *E. caucasicum* Woronow, *E. sibiricum* и *E. japonicum* Desne. Они разрозненно распространены в Европе, на Кавказе, в Сибири и на Дальнем Востоке соответственно [8].

В Южной Сибири распространены четыре вида кандыка: *Erythronium sibiricum*, *E. sajanense*, *E. sulevii*, *E. krylovii* Stepanov [2].

Ниже приведена характеристика изучаемых нами видов.

### **1.1.1 *Erythronium sibiricum* - кандык сибирский**

*Erythronium sibiricum* – гемиэндемичный вид, распространенный в юго-западной части Южной Сибири. Наиболее широко кандык сибирский представлен на юге таежной зоны Западной Сибири и Алтая. Распространён в

Новосибирской, Кемеровской, Томской областях, Алтайском, юге Красноярского края, Западной Туве. Также ареал вида охватывает северо-восток Казахстана, Северную Монголию и Алтайские горы на северо-западе Китая [10].

Кандык сибирский – реликт третичных широколиственных лесов, преимущественно лесной мезофит, однако на границе ареала обитает в высокогорьях, т. е. имеет широкую экологическую амплитуду [11]. Он морозоустойчив, обладает высокой адаптационной способностью [9].

В ранг самостоятельного вида впервые был возведён П. Н. Крыловым в 1929 году. Он описал его как луковичное растение, с «фиолетово-розовыми или лиловыми цветками, редко почти белыми или желтоватыми» [11]. Типичная форма включает растения с проксимально желтовато-беловатыми и дистально пурпурными или фиолетово-окрашенными листочками околоцветника и желтыми пыльниками [8].

Для данного вида характерны рыльца с тремя-шестью отдельными лопастями; заостренная или овальная форма верхней части лепестков; овально-продолговатая по всей длине, с расширением в средней либо нижней части, продолговато- коническая, узкоконическая форма долей околоцветника. Также отмечена зубчатая, линейная, копьевидно-зубчатая, копьевидно-дугообразная, серповидная, ромбовидная форма пятна, расположенного на высоте  $1/3$  части от основания лепестка. При этом пятна могут быть разных оттенков от светло-вишневого до темно-вишневого, со светло-зеленой, белой, желтой штриховкой [11].

Форма цветка также варьируется. Были отмечены цветки:

- с цикламеновидной формой с широкими, средними и узкими долями околоцветника, которые располагаются поочередно вверх и вниз;
- с чашевидной и лилиевидной формой с лепестками, направленными либо вверх, либо вниз;
- с поникающей и не поникающей формой [11].

Окраска цветов также различна. Были описаны цветки с малиновой, светло-малиновой, темно-малиновой, бордовой, розовой, лилово-розовой окраской. Лист может менять окраску от буровато-зеленой до светло-зеленой, со слабо заметными беловатыми или антоциановыми пятнами [11].

Кандык сибирский занесён в Красную книгу Новосибирской области (2008) со статусом 2V, также он является редким видом Томской (2002), Кемеровской областей (2008), Красноярского края (2005, 2022), республики Тыва (1999), Казахстана (2007), Алтайского края (1998).

### **1.1.2 *Erythronium sajanense* – кандык саянский**

*Erythronium sajanense* – вид, эндемичный для центральной и северо-восточной частей Западного Саяна. Растет на высотах 300-1900 м над уровнем моря и относится к евразийской кладе *Erythronium* [2, 8].

В соответствии с филогенетической видовой концепцией, таксономическая независимость *E. sajanense* оправдана. *E. sajanense* морфологически отличается от всех других сибирских таксонов *Erythronium* по ряду признаков. Так, кандык саянский имеет шиловидные тычиночные нити, которые постепенно расширяются книзу, приобретая узко-клиновидную форму, а в основании резко сужаются. В этом отношении *E. sajanense* можно считать сходным с *E. japonicum*, у которого нити нитевидно-шиловидные, но никогда не сплюснутые посередине. Также кандык саянский имеет более компактное рыльце столбика [2, 8].

Форма долей околоцветника более или менее постоянна: большей частью это узко ассиметрично ромбические «лепестки», довольно широкие; но изредка в некоторых популяциях отмечаются узко-ланцетные доли околоцветника и доли с подвернутыми краями. Окраска лепестков также отличает данный вид. Лепестки *E. sajanense* характеризуются чётко ограниченной лилово-розовой верхней частью, пестрой нижней. Белая полоса отделена более четкой изогнутой коричневой полоской около 1 мм шириной. Также для данного вида характерно резко выраженное расширение листочков околоцветника в их нижней трети, что придает им форму вытянутого, ассиметричного ромба. За счёт значительно

расширенной части листочки околоцветника всегда перекрываются, что делает цветок более массивным [2].

Также было отмечено, что размеры листьев варьируются «независимо» от размеров растений: у растений среднего размера могут отмечаться весьма крупные листья, красно-бордового цвета с ярко-зелеными пятнами [2].

К особенностям анатомического строения можно отнести крупные устьица, как на верхнем, так и нижнем эпидермисе, а также наличие сдвоенных устьиц или групп по три штуки [2].

### 1.1.3 *Erythronium sulevii* – кандык Сулева

*Erythronium sulevii* – еще один вид, который впервые описал Янис Рукшанс в «Buried Treasures, Finding and Growing the World's Choicest Bulbs» (2007), как подвид кандыка сибирского (*Erythronium sibiricum* subsp. *sulevii* Rukšans). Недавно он был возведён в статус вида Н.В. Степановым и В.В. Стасовой (2011). Происходит из северных предгорий Алтая, является горнолесным видом – обитающим в лесных и в высокогорных поясах. Отличается от типичной формы своими пыльниками угольно-черного цвета, и тычиночными нитями, которые сплющены ближе к середине. Цветение наступает поздно, а листья, как правило, пестрые [1, 8].

Таким образом, можно отметить, что ключевыми признаками рода *Erythronium* являются одиночные актиноморфные цветки размером более 5 сантиметров; тонкие удлиненные доли рыльца; линейные тычиночные нити; луковицы, покрытые оболочкой; простые листья на которых может отмечаться пятнистость, исчезающая после цветения.

Исследуемые нами виды сходны по наличию луковиц высотой от 3 до 8 см, одиночным цветкам с крупным околоцветником из шести лепестков, наличию поперечной складочки на внутренних листочках околоцветника. Однако, отличия между этими видами значительны. Кандык саянский отличается более компактным рыльцем столбика, шиловидными тычиночными нитями, которые постепенно расширяются книзу, а также более яркой окраской лепестков с чётко

ограниченной лилово-розовой верхней частью и пестрой нижней. А кандык Сулева, в свою очередь, отличается от типичной формы кандыка сибирского пыльниками угольно-черного цвета, тычиночными нитями, которые сплющены ближе к середине и более пестрыми листьями.

## **1.2. ISSR-анализ полиморфизма ДНК**

С момента зарождения современной селекции растений и генетики в начале этого столетия генетические маркеры использовались, как средство для анализа таксономического, филогенетического и генетического разнообразия. Молекулярные или ДНК-маркеры значительно расширили применение маркерной технологии. Первым ДНК-маркером, примененным к растениям, был анализ RFLP. После получила распространение разработка маркерных систем на основе ПЦР, включив случайную амплифицированную полиморфную ДНК (RAPD), простые повторы последовательности (SSR), межмикросателлитные повторы (ISSR) и анализ полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (AFLP) [12, 13].

В геномах эукариот много коротких tandemных повторов - микросателлитов (SSR) - высокополиморфных мотивов из 2-5 пар оснований. Они являются широко распространёнными молекулярными маркерами в генетических и геномных исследованиях. Однолокусные SSR-маркеры были разработаны для многих видов, но при разработке SSR-маркеров существует серьезное препятствие, заключающееся в том, что фланкирующие последовательности должны быть известны для создания 5'-якорей для праймеров полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ISSR был разработан таким образом, что знание последовательности не требовалось. Праймеры, основанные на повторяющейся последовательности, например, (CA)<sub>8</sub>, могут быть изготовлены с вырожденным 3'-якорем, таким как (CA)<sub>8</sub>RG или (AGC)<sub>6</sub>T<sub>Y</sub> (где R = пурины: G или A; Y = пиримидины: C или T). В результате ПЦР амплифицируется последовательность между двумя SSR, получая

мультифокусную маркерную систему, полезную для определения видов, анализа разнообразия и картирования генома [13; 14].

Эффективность применения маркеров ISSR определяется разнообразием и частотой микросателлитов, которые варьируют в зависимости от конкретного вида и характеристик SSR. Для надежного измерения генетических взаимосвязей и генетического разнообразия требуется большое количество полиморфных маркеров [15, 16].

Многие исследования показали, что анализ ISSR обычно обнаруживает более высокий уровень полиморфизма, чем тот, который обнаруживается с помощью анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов (RFLP) или анализа случайной амплифицированной полиморфной ДНК (RAPD). Данный метод используют для идентификации сортов, оценки разнообразия растений, анализа филогенетического и генетического разнообразия, подтверждения гибридизации, картирования генома и так далее [13]. Фактически, ISSR маркеры обладают высокой способностью выявлять полиморфизм и предлагают большой потенциал для определения внутри- и межпопуляционного разнообразия по сравнению с другими произвольными праймерами, такими как RAPD [16]. Маркеры ISSR преодолевают недостатки низкой воспроизводимости RAPD, высокой стоимости AFLP и сложности SSR и представляют собой быстрый и экономичный метод [12, 14, 15].

### **1.3 Молекулярные маркеры растений для филогенетического анализа**

Современные достижения в области исследования биологии растений включают: получение больших объемов молекулярно-генетических данных; развитие впечатляющих методологических навыков в проведении молекулярно-биологических экспериментов и системного анализа; пути и способы использования имеющихся ресурсов для активизации междисциплинарных усилий по поиску решений сложных проблем молекулярной биологии [17].

В прошлом первоначальные исследования, связанные с эволюцией, полностью зависели от географических и морфологических изменений среди

организмов. Достижения в области методов молекулярной биологии дают расширенную информацию, связанную с генетической структурой. Для восстановления генетической карты, чтобы получить полную информацию о филогении и эволюции видов, в настоящее время в больших масштабах используются молекулярные маркеры. В молекулярных исследованиях часто используют последовательности генома хлоропластов благодаря их простой и стабильной генетической природе, что делает их идеальными маркерами при оценке филогении растений [18].

В последние годы развитие молекулярно-генетических методов позволило использовать молекулярные маркеры для идентификации видов и филогенетических исследований. Разумеется, классические подходы не могут быть полностью заменены молекулярными методами, но зато могут быть эффективно ими дополнены. Молекулярно-биологические подходы основаны на принципе, что степень родства между живыми организмами связана с уровнем сходства в гомологичных последовательностях нуклеиновых кислот и белков [19].

Молекулярный маркер – это участок ДНК, который находится в конкретном месте на хромосоме или гене и обладает характеристиками, которые позволяют легко определить его присутствие. Он может использоваться для идентификации индивидуумов или маркировки хромосом, ядер или генетических локусов [20–23].

Маркеры демонстрируют полиморфизм, который может возникнуть вследствие изменения нуклеотида или мутации в локусах генома и позволяют идентифицировать генетические различия между отдельными организмами или видами [20, 23].

Маркеры в широком смысле можно разделить на две основные категории: морфологические и молекулярные. Проблема с морфологическими маркерами заключается в том, что они не всегда подходят для целей селекции или точного видоопределения, например, для близкородственных видов. Молекулярные

маркеры более надежны, так как они случайно и равномерно распределены по геному, и не зависят от условий окружающей среды [22].

Идеальные генетические маркеры должны быть уникальными, экономичными, высокополиморфными, легко анализируемыми, многофункциональными, доступными, геномспецифичными, автоматизируемыми и не должны оказывать никакого вредного влияния на фенотип. Кроме того, эталонный участок ДНК должен быть небольшого размера (от 500 до 800 нуклеотидов), иметь одинаковую последовательность у особей одного вида и различаться у особей разных видов не более чем на 1% полиморфных сайтов. Также важно, чтобы последовательность этого участка была прочитана в обоих направлениях, и был известен, как прямой, так и обратный праймеры [19, 22, 24].

Разрешающая способность генетических маркеров выявляется уровнем обнаруженного полиморфизма, который определяется частотой мутаций в соответствующих участках генома [22].

В настоящее время в качестве молекулярных маркеров, подходящих для работы с растениями, используются: ядерные последовательности — ITS1 и ITS2, пластидные последовательности — *rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* [19].

- *matK* (maturase K) – хлоропластный маркер, кодирует матуразу K;
- *rbcL* (gene of large subunit of ribulose biphosphate carboxylase) - хлоропластный маркер, ген большой субъединицы рибулозобисфосфат карбоксилазы;
- *rpoB* ( $\beta$ -subunit gene of RNA polymerase) – хлоропластный маркер, ген  $\beta$ -субъединицы РНК-полимеразы;
- *rpoC1* ( $\gamma$ -subunit gene of RNA polymerase) – хлоропластный, ген  $\gamma$ -субъединицы РНК-полимеразы;

- *psbK-psbI* (spacer of genes encoding components of photosystem II) – хлоропластный маркер, спейсер генов, кодирующих компоненты фотосистемы II;
- *trnH-psbA* (spacer between the genes of histidine transfer RNA and the gene controlling the synthesis of D1 protein of photosystem II) – хлоропластный маркер, спейсер между генами гистидиновой транспортной РНК и геном, контролирующим синтез белка D1 фотосистемы II;
- *atpF-atpH* (spacer between genes encoding ATP synthase subunits) – хлоропластный маркер, спейсер между генами, кодирующими субъединицы АТФ синтазы;
- *ndhF* (nicotinamide dehydrogenase subunit gene) – хлоропластный маркер, ген субъединицы никотинамиддегидрогеназы;
- *rpS4-trnT* (spacer between the gene of the ribosomal protein 4 of the small subunit and threonine transfer RNA) – хлоропластный маркер, спейсер между геном рибосомального белка 4 малой субъединицы и треониновой транспортной РНК;
- *trnL-trnF* (variable region between the genes for the transfer RNA of leucine and phenylalanine, including the intron of the *trnL* gene) – хлоропластный маркер, переменный участок между генами транспортных РНК лейцина и фенилаланина, включая интрон гена *trnL*;
- ITS (spacer localized between 18S-26S rRNA genes includes ITS1, 5.8S, ITS2) – внутренний транскрибируемый спейсер, локализованный между генами 18S-26S рРНК, включает ITS1, ген 5,8S, ITS2 [25].

Можно отметить, что хлоропластные маркеры отличаются большим разнообразием и вариабельностью, что позволяет подбирать конкретный маркер под цель работы и исследуемую таксономическую группу. Для повышения качества работы рекомендуется комбинировать несколько маркеров в одном исследовании. Но хлоропластные маркеры имеют некоторые недостатки, такие как: наследование по материнскому типу, которое не в полной мере отражает

историю вида; затруднение интерпретации результатов, в связи с наличием обмена генетического материала между органеллами или между органеллами и ядром; горизонтальный перенос хлоропластных генов [19, 25].

Ядерные последовательности ITS также часто используются в филогенетических исследованиях. Рибосомальные гены представляют собой единый кластер ядерных генов, состоящий из транскрибируемой области (гены 18S, 5.8S и 26S рРНК), внутренних транскрибируемых спейсеров, расположенных по обе стороны от 5.8S рРНК (ITS1 и ITS2), и фланкирующих внешних транскрибируемых спейсеров — (ETS1 и ETS2). Предполагается, что ITS эволюционировали с высокой скоростью, и, следовательно, могут сильно отличаться даже у близкородственных организмов. Можно выделить некоторые преимущества ITS: универсальность, высокая вариабельность, наличие консервативных границ, высокая копияность, протяженность ITS (удобная длина анализируемого участка (ITS1-5.8S-ITS2) для ПЦР-анализа и секвенирования), двуродительское наследование [19]. Но можно выделить и некоторые недостатки:

- гены, кодирующие структурные единицы рибосом, присутствуют в ядре растительной клетки в виде множества копий, которые могут быть локализованы на разных хромосомах, и отдельные копии могут эволюционировать более или менее независимо друг от друга, что может привести к наличию внутривидового или даже внутриорганизменного полиморфизма.
- последовательности ITS характеризуются более высоким уровнем гомоплазии, что приводит к тому что в некоторых случаях последовательности ITS оказываются недостаточно информативными для филогенетических исследований [22, 25].

Таким образом, можно отметить, что молекулярные маркеры имеют ряд преимуществ. Они не зависят от внешней среды и плейотропных эффектов, не подвержены фенотипической пластичности, в отличие от морфологических и биохимических маркеров. ДНК-последовательности обеспечивают более

однородные и точные результаты, чем другие типы маркеров. Подбор и анализ молекулярных маркеров требует внимательного подхода из-за их разнообразия и уникальных качеств.

Важно заметить, что комбинирование методов морфологии и генетики, таких как ISSR-ПЦР и секвенирование, в исследованиях разнообразия обеспечивает более полное понимание структуры популяций и видов. ISSR-ПЦР и секвенирование позволяет анализировать изменчивость в геноме на уровне ДНК, выявляя генетические различия между организмами. Такой комплексный подход, объединяющий данные морфологических и генетических характеристик, позволяет получить более точные и надежные результаты. Морфологические данные могут помочь интерпретировать генетические различия, а генетические данные могут подтвердить или опровергнуть морфологические особенности. Такой комплексный подход позволяет более глубоко исследовать генетическое разнообразие и эволюционные процессы в популяциях и видовых группах.

#### **1.4 Филогения рода *Erythronium***

Лилейные, распространенные в Северном полушарии, в умеренных зонах Восточной Азии и Северной Америки, включают множество декоративных растений с привлекательными цветами. В APG IV (2016) описано 15 родов и более 600 видов этого семейства, которые относятся к лепестковидным однодольным растениям. Таксономия лилейных подверглась значительным изменениям на основе современных молекулярно-филогенетических исследований, что привело к пересмотру их классификации [5].

Первый анализ, основанный на данных о последовательности ДНК кандыков, был опубликован в работе Allen, Soltis & Soltis (2003). Для исследования использовались два участка ДНК: пластидный ген *matK* и *nrITS*. Как известно, объединение данных морфологии и генетики позволяет получить более полное представление о филогенетических отношениях, что и было использовано в этой работе. Поэтому данные результаты позволили получить хорошо разрешенное и поддерживаемое дерево для выбранных таксонов. Было

установлено, что в молекулярном анализе род *Erythronium* тесно связан с родами *Tulipa* L. и *Amana* Honda [6, 7].

Также были четко определены три географические группы: евразийская, западно-североамериканская и восточно-североамериканская (рисунок1). Было установлено, что западно-североамериканская клада была сестринской для евразийской и восточно-североамериканской клад и возникла до расхождения последних двух групп. Таким образом, евразийский и восточно-североамериканский таксоны более тесно связаны друг с другом, чем с западно-североамериканскими таксонами. По-видимому, существует также и большее количество морфологических признаков, связывающих евразийские таксоны с таксонами восточной части Северной Америки, чем с таксонами западной части Северной Америки, включая случайную пятнистость листьев и элайосомы. Западно-североамериканская клада демонстрирует большее морфологическое и молекулярное разнообразие, чем любая из двух других клад, и многие из ее видов гибридизируют, что свидетельствует как о недавнем, так и о продолжающемся видообразовании [6, 7].

Восточно-североамериканские виды *Erythronium* встречаются в основном в лиственных лесах, которые, вероятно, во многих отношениях похожи на обширные лиственные леса Северного полушария раннего-среднего третичного периода. Эта группа изменчива по основному числу хромосом и имеет две различные линии: виды с желтыми цветами (*E. rostratum* W.Wolf, *E. umbilicatum* C.R.Parks & Hardin, *E. americanum* Ker-Gawl) , и виды с белыми цветками (*E. mesochoreum* Knerr, *E. albidum* L., *E. propullans* A.Gray) [7].

Западная североамериканская клада р. *Erythronium*, по-видимому, претерпела быструю молекулярную и морфологическую диверсификацию после отделения от других групп. Расхождение между ITS последовательностями в пределах западной североамериканской клады выше, чем в двух других. Также группа обладает множеством апоморфных признаков, многие из которых являются уникальными для этой клады [7].

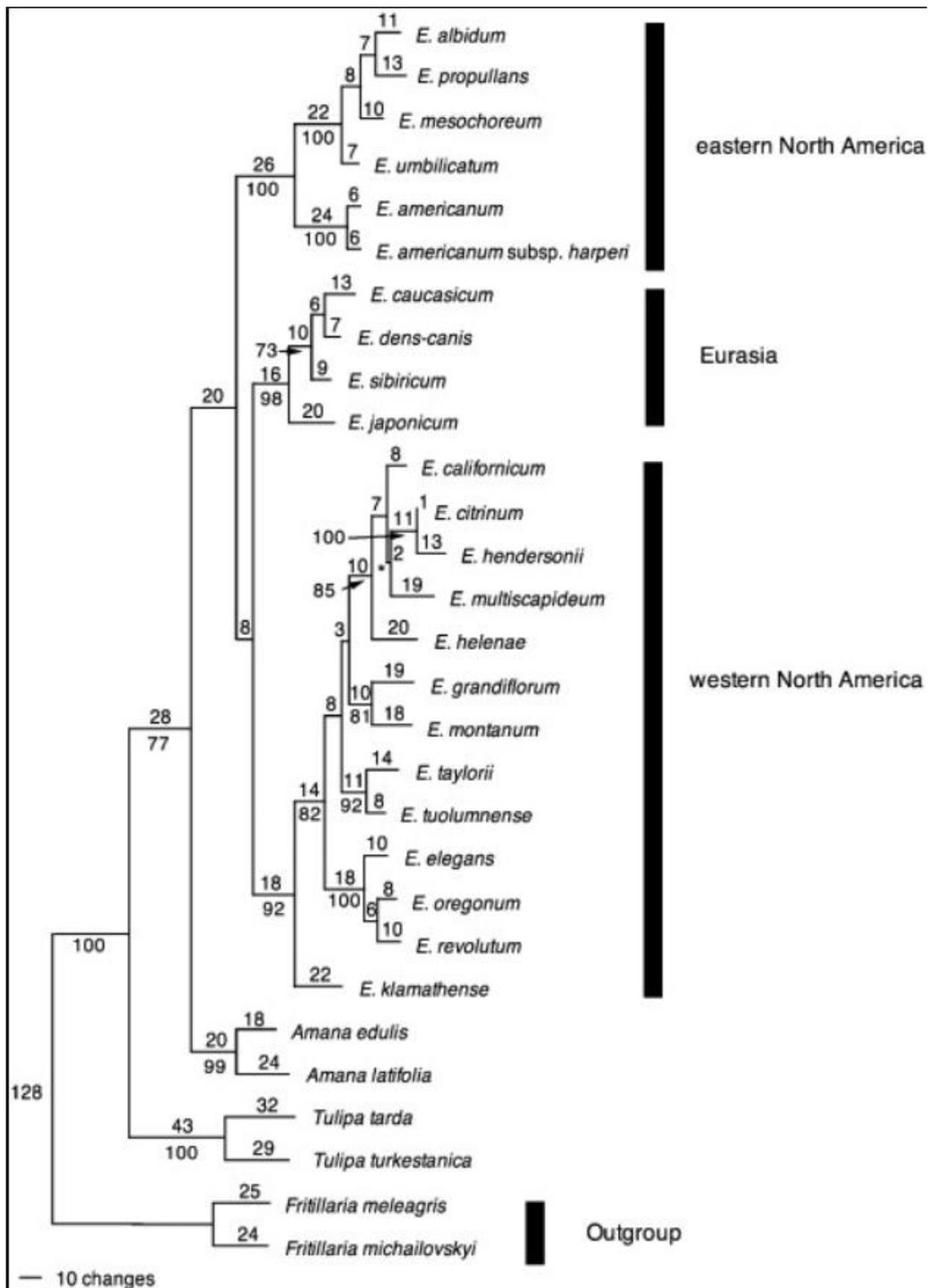


Рисунок 1. – Филогенетическое дерево для р. *Erythronium*, основанное на молекулярных данных (интроны ITS, *matK* и *gsp16*) и морфологических данных для 29 таксонов [7]

В Евразии традиционно выделяется четыре вида рода *Erythronium*: *E. dens-canis*, *E. caucasicum*, *E. sibiricum* и *E. japonicum* из-за различий в их распространении и морфологии. *E. sibiricum* обитает в Южной Сибири, Казахстане, Китае и Монголии в Алтае-Саянском регионе. Недавно были

предложены новые таксоны внутри *E. sibiricum*: *E. sajanense*, *E. sibiricum subsp. altaicum*, *E. sulevii* [8].

Генетическое исследование Н.В. Степанова и Л. Барза показало, что *E. sibiricum* не является монофилетическим видом. Филогенетическое дерево на основе пластидных и ядерных последовательностей выделяет *E. sajanense* как отдельный вид. Результаты согласуются с молекулярной и морфологической информацией, подтверждая таксономическую независимость *E. sajanense* [8].

Также можно отметить, что евразийские виды рассматривались как представители *E. dens-canis*, что указывает на отсутствие значительных морфологических различий между ними. В дальнейшем при проведении генетических исследований выявлено, что *E. japonicum* является ближайшим родственником для всех евразийских видов, а *E. sibiricum* ближе к *E. caucasicum* и *E. dens-canis*, что может свидетельствовать о распространении группы с востока на запад по Евразии. Географическое распределение всех четырех видов сильно разрознено и, вероятно, представляет остатки более широкого ареала [8].

## 2. Районы и методы исследования

### 2.1. Характеристика районов исследования

Наши исследования проводились в горах Южной Сибири: в предгорьях Алтая (окр. г. Белокуриха), в Кузнецком Алатау (окр. г. Кемерово, окр. пос. Коммунар), в Западном Саяне (окр. пос. Танзыбей, окр. пос. Майна).

Алтайский край располагается в пределах юго-восточной части Западно-Сибирской равнины. Рельеф Алтайского края представлен Кулундинской равниной на западе Приобским плато, Бийско-Чумышский возвышенностью, Предсалаирской и Предалтайской предгорными наклонными равнинами на востоке Салаирским кряжем на северо-востоке и хребтами Чергинский, Ануйский, Бащелакский, Коргонский, Коксуйский, Тигирецкий на юго-востоке [26–29].

Город Белокуриха располагается на Предалтайской подгорной равнине в долине реки Белокуриха у подножия горы Церковки [26, 28].

Климат в Алтайском крае – континентальный, т.е. характеризуется длинной холодной зимой и коротким жарким летом, что особенно сильно выражено на западе и юго-западе. В Предалтайской подгорной равнине и в прилегающих к ней горах климат значительно мягче и характеризуется безветренной погодой и высокой для края средней температурой. Количество солнечных дней в Белокурихе достигает 260. Весна сравнительно ранняя и тёплая; зима сухая, почти безветренная с большим количеством ясных солнечных дней; лето нежаркое; осень тёплая с небольшим количеством осадков [26; 30–32].

Алтайский край находится в лесостепной и степной зонах. Болота занимают 2,5%, леса 26,4% площади края. Типы и подтипы почв разнообразны, но основную часть составляют чернозёмы: обыкновенные, выщелоченные, южные, оподзоленные, а также каштановые почвы [30, 33].

На Чергинском хребте, окаймляющем южную часть города Белокуриха, встречаются лиственничные леса паркового типа на горно-лесных

чернозёмовидных почвах, а также луговые кустарниковые степи, что образует экспозиционную лесостепь. Флора Алтайского края насчитывает 2186 видов высших сосудистых растений из которых в Красную книгу внесены 144 вида [26, 30, 32].

Кузнецкий Алатау представляет собой горный массив в Южной Сибири. Рельеф этого региона характеризуется высокими горами, глубокими ущельями, крутыми склонами и острыми вершинами. Юго-западный склон более короткий, крутой и глубокорасчленённый, чем северо-восточный. На севере преобладают низкогорья, в центральной части – среднегорья. Высоты пиков колеблются от 800 до 2000 метров над уровнем моря. Высшая точка – гора Верхний Зуб (2178 метров). Это создает разнообразные микроклиматические условия в районе: от умеренного до альпийского [26, 34, 35].

Климат в Кузнецком Алатау изменчивый и зависит от высоты над уровнем моря, но в целом территория расположена в пределах умеренного климатического пояса. В низких районах преобладает континентальный климат с холодной зимой и теплым летом, а на высоких горных склонах - альпийский климат с холодной зимой и прохладным летом. Среднегодовая температура воздуха изменяется от  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Средняя температура января от  $-15,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-19,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , июля – от  $12,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $17,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Абсолютный минимум составляет от  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-56\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Высота снежного покрова достигает 3–4,5 метра, что препятствует промерзанию почвы и повышает влажность почв в начале вегетационного периода. Высокая влажность и обилие осадков способствуют формированию богатой растительности [26, 35, 36].

Реки бассейна Кузнецкого Алатау сливаются в реки Томи и Чулыма. Снегопады составляют большую часть годового стока, остальное поступает из дождевых и подземных источников. Реки имеют весеннее половодье и летне-осеннюю межень, нарушаемую дождевыми паводками. Речная сеть плотная, с порогами и водопадами. Многие притоки реки Томь берут начало из ледников, снежников и болот. Горные болота выполняют функцию естественного фильтра для вод, используемых в Кузнецкой котловине. Реки бассейна Чулыма имеют

широкие долины, местами заболоченные. Озера многочисленны, особенно на северо-восточной окраине [26, 35, 37].

Почвы в Кузнецком Алатау разнообразны и зависят от рельефа, климата и растительности. В низких районах встречаются черноземы, а в горах - горные почвы, каменистые почвы и бурые лесные почвы. В низкогорьях и среднегорьях преобладают горно-таёжные ландшафты [26, 38].

На влажном юго-западном склоне низкие осиново-пихтовые леса с высокой травой процветают на высотах 300–600 метров. В подлеске обильно представлены черёмуха, карагана, спирея, калина, жимолость, жёлтая акация. Травостой включает виды, характерные для европейских широколиственных лесов. На лесных полянах встречаются крупнотравные луга с высотой до 2,5 метров. Во влажных низкогорьях распространены вторичные берёзовые и берёзово-осиновые крупнотравные леса. На высотах 600–800 метров преобладают елово-пихново-кедровые леса с крупными травами, затем переходящие в темнохвойные леса. На более высоких высотах растут редколесья и альпийские луговины. На менее влажном северо-восточном склоне ландшафты характеризуются степными и лиственнично-сосновыми лесами. По крутым склонам степные сообщества поднимаются до 550—600 метров. Выше преобладают лиственничные и остепнённые лиственнично-сосновые леса [26, 38, 39].

Животный мир богат разнообразными видами, включая медведей, рысей, лосей, оленей, лисиц, соболей, белок, барсуков и других животных. Виды птиц и рыб также разнообразны [26].

Западный Саян - это горный массив в Южной Сибири, который простирается на территории России и Монголии. Рельеф данного региона характеризуется высокими пиками, глубокими долинами, крутыми склонами и многочисленными речными системами. Высоты Западного Саяна достигают 3000 метров и более, высшая точка – гора Бай-Тайга, высота которой 3128 метра [26, 39, 40].

Климат Западного Саяна умеренный резко континентальный. В низких районах преобладает континентальный климат с холодными зимами и теплым летом, в то время как на высоких высотах наблюдается альпийский климат с холодными зимами и прохладным летом. Средняя температура в январе на различных высотах колеблется от  $-19,5$  °С до  $-34,9$  °С. Осадков в этом регионе достаточно много, особенно на юго-западных склонах: от 330 мм до 1800 мм, с максимумом в июле и минимумом в феврале. На северном макросклоне Западного Саяна имеется значительный снежный покров, что способствует лавинной деятельности [26, 40, 41].

Водные ресурсы включают реки, принадлежащие бассейну реки Енисей, такие как Она, Кантегир, Амыл, Алаш, Сыстыг-Хем, Уюк, Ус и другие. Реки на северном макросклоне обладают большим количеством воды, высокими прозрачностью, скоростями течения и обилием порогов. В высокогорьях присутствуют многочисленные озера, как моренно-подпрудные, так и каровые, крупнейшее из которых Кара-Холь [26, 37, 39, 40].

Почвы Западного Саяна разнообразны и зависят от высоты, уклона и влажности. В низких районах встречаются черноземы, а в горах - горные, каменистые и болотные почвы. Это создает уникальные условия для развития разнообразной флоры и фауны [26, 38, 40].

В регионе преобладают таёжные леса. Верхняя граница леса расположена на разных высотах в зависимости от макросклона. На высотах 350–850 м господствует черневая осиново-кедрово-пихтовая травяно-зеленомошная тайга. В высокогорьях преобладают подгольцово-субальпийские редколесья из пихты и кедра. В высокогорьях тундры обнаруживаются различные типы ландшафтов: мохово-кустарничковые, мохово-лишайниковые на пологих склонах, лишайниковые, дриадовые на вершинах, кустарниковые на участках с моренными отложениями. В увлажненных и снежных местах встречаются альпийские луговины с разнообразными растениями. В предгорьях можно найти парковые лиственничники на черноземоподобных почвах [26, 42, 43].

Животный мир разнообразен. В тайге обитают медведи, лисицы, лоси, маралы, россомахи, соболи, горностаи, ласки, белки, зайцы-беляки и различные виды птиц. Горные тундры населяются оленями, пищухами, гималайскими завирушками и другими животными. Некоторые из этих видов находятся под угрозой исчезновения, такие как лесные северные олени, манулы и снежные барсы [40].

## 2.2. Объекты исследования

Сбор материала проводился в мае 2022-2023 годов. Объектами исследований служили 6 популяций *E. sajanense*, 3 популяции *E. sibiricum* и 1 популяция *E. sulevii*. Характеристика местообитаний и их расположение приведены в таблице 1 и на рисунке 2.

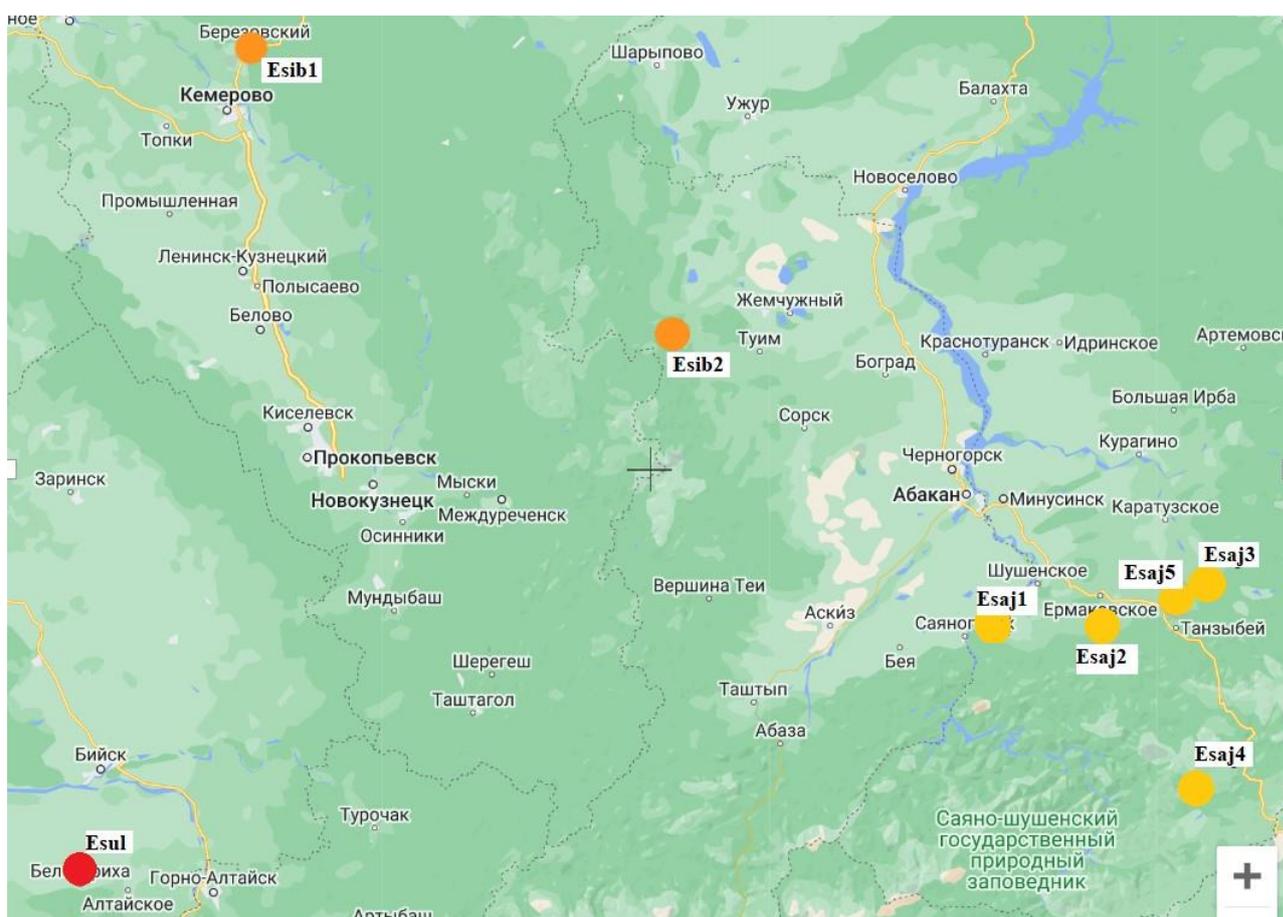


Рисунок 2 – Расположение популяций изучаемых видов

Таблица 1 – Характеристика местообитаний изучаемых видов

Популяция	Название сообщества и местоположение	Координаты	Состав древостоя, сомкнутость крон	Доминирующие виды травяно-кустарничкового яруса
Esaj1 <i>Erythronium sajanense</i>	Сосняк разнотравно-осочковый (Район дельты реки Уй, окр. пос. Майна, Хакасия)	53°01'50.70" 91°46'76.58"	10С+Б 0,5	<i>Carex macroura</i> <i>Erythronium sajanense</i> <i>Pteridium pinetorum</i> <i>Lilium pilosiusculum</i>
Esaj2 <i>Erythronium sajanense</i>	Черневой смешанный лес (окр. д. Большая речка, Ермаковский район, Красноярский край)	53°03'59.07" 92°43'33.84"	4Б4П2Ос+ К 0,7	<i>Stellaria bungeana</i> <i>Erythronium sajanense</i> <i>Carex macroura</i> <i>Fragaria vesca</i>
Esaj3 <i>Erythronium sajanense</i>	Черневая тайга (долина р. Колупаевка, Ермаковский район, Красноярский край)	53°12'29.45" 92°87'64.96"	4П4К2Ос	<i>Athyrium monomachii</i> , <i>Pteridium pinetorum</i> , <i>Pulmonaria mollis</i> <i>Oxalis acetosella</i> , <i>Erythronium sajanense</i> , <i>Anemone altaica</i>
Esaj4 <i>Erythronium sajanense</i>	Березово-лиственничный лес разнотравно-осочковый (кордон Таловка, природный парк «Ергаки», Ермаковский район, Красноярский край)	52°40'99.37" 93°34'20.91"	6Л4Б, 0,6	<i>Carex macroura</i> <i>Corydalis bracteata</i> <i>Anemone jennisensis</i> <i>Erythronium sajanense</i>
Esaj5 <i>Erythronium sajanense</i>	Черневая тайга (дол. р. Малый Кебеж, Ермаковский район, Красноярский край)	53.150740 92.949409	6П4К+Ос, 0,7	<i>Erythronium sajanense</i> , <i>Pteridium pinetorum</i> , <i>Aconitum septentrionale</i> , <i>Corydalis bombylina</i> , <i>Carex macroura</i>
Esib1 <i>Erythronium sibiricum</i>	Пихтово-осиновый лес (Кемеровская область, окр. г. Кемерово)	55°34'35.86" 86°15'39.00"	7Ос3П 0,7	<i>Anemone altaica</i> <i>Erythronium sibiricum</i> <i>Corydalis bracteata</i>
Esib2 <i>Erythronium sibiricum</i>	Березняк с примесью лиственницы и ели (окр. пос. Коммунар, Хакасия)	54°34'45.00" 89°27'65.10"	9Б1Л+Е 0,3	<i>Erythronium sibiricum</i> <i>Carex arnellii</i> <i>Brachypodium pinnatum</i> <i>Filipendula ulmaria</i>
Esul <i>Erythronium sulevii</i>	Сосняк разнотравно-осочковый (г. Белокуриха, Алтайский край)	51°58'43.80" 84°57'36.60"	10С+Б 0,5	<i>Carex macroura</i> <i>Anemone altaica</i> <i>Erythronium sulevii</i>

Окончание таблицы 1

Популяция	Название сообщества и местоположение	Координаты	Состав древостоя, сомкнутость крон	Доминирующие виды травяно-кустарничкового яруса
<i>Eruo Erythronium tuolumnense</i>	Растение в культуре (пос. Танзыбей, Ермаковского р-на)			

[Страницы с 27 по 53 изъятые в связи с авторскими правами]

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rukšāns, J. Buried treasures. Timber Press / J. Rukšāns // Portland. – 2007.
2. Степанов, Н.В. О новом таксоне рода кандык (*Erythronium* - Liliaceae) из Западного Саяна / Н.В. Степанов, В.В. Стасова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2011. – № 8. – С. 58-63.
3. Clennet, C. The Genus *Erythronium* / C. Clennet. – Royal Botanic Gardens, 2014. – 224 с.
4. Takahashi, M. Pollen Morphology in the Genus *Erythronium* (Liliaceae) and its Systematic Implications / M. Takahashi // American Journal of Botany. – 1987. – Т. 74. – С. 1254.
5. Kim, J.S. Updated molecular phylogenetic analysis, dating and biogeographical history of the lily family (Liliaceae: Liliales) / Jung Sung Kim, Joo-Hwan Kim // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2018. – V.187. – I.4. – P.579–593.
6. Allen, G. Phylogeny and Biogeography of *Erythronium* (Liliaceae) Inferred from Chloroplast matK and Nuclear rDNA ITS Sequences / G. Allen, D. Soltis, P. Soltis // Systematic Botany. – 2003. – Т. 28. – С. 512-523.
7. John, C. B., Phylogenetic systematics of *Erythronium* (Liliaceae): morphological and molecular analyses / C. B. John, M. W. Clennett, F. Forest, O. Maurin, P. Wilkin, // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2012. – V.170. – I.4. – P.504–528.
8. Bartha, L. Non-monophyly of Siberian *Erythronium* (Liliaceae) leads to the recognition of the formerly neglected *Erythronium sajanense* / L. Bartha, N. Stepanov, J. Ruksans, H. Banciu, L. Keresztes // Journal of plant research. – 2015. – I.128. – P.721-729.
9. Седельникова, Л.Л. К биологии кандыка сибирского (*Erythronium sibiricum* (Liliaceae)) / Л.Л. Седельникова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2013. – № 7. – С. 106-113.

10. Степанов, Н.В. Анатомо-морфологические особенности сибирских кандыков *Erythronium sibiricum* и *Erythronium sajanense* / Н.В. Степанов, В.В. Стасова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2014. – № 8. – С. 68-77.
11. Седельникова, Л. Л. Изменчивость окраски цветка у *Erythronium sibiricum*/Л.Седельникова // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2018. - С. 505–508.
12. Chen, Y. ISSR analysis of genetic diversity in sacred lotus cultivars / Y. Chen, R. Zhou, X. Lin, K. Wu, X. Qian, S. Huang // Aquatic Botany. – 2008. – V.89. – I.3. - P.311-316.
13. Godwin, I.D. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics / I.D. Godwin, E.A. Aitken, L.W. Smith // Electrophoresis. – 1997. – Т. 18. – № 9. – С. 1524-1528.
14. Esfandani-Bozchaloyi, S. Morphometric and ISSR-Analysis of Local Populations of *Geranium molle* L. from the Southern Coast of the Caspian Sea / Esfandani-Bozchaloyi, S., Sheidai, M., Keshavarzi, M. et al. // Cytol. Genet. – 2018. – V.52. – P.309–321.
15. Guo, W. Genetic diversity of *Lilium tsingtauense* in China and Korea revealed by ISSR markers and morphological characters / W. Guo, J. Jeong, Z. Kim, R. Wang, E. Kim, S. Kim // Biochemical Systematics and Ecology. – 2011. – V.39. – I. 4–6. – P.352-360.
16. Jegadeesan, S. A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers / S. Jegadeesan, T. Gopalakrishna // Theoretical and applied genetics. – 2004. – Т. 109. – С. 1687-93.
17. Andersen, J.R. Functional markers in plants / J.R. Andersen, T. Lübberstedt // Trends in Plant Science. – 2003. – Т. 8. – № 11. – С. 554-560.
18. Nadeem, M. A. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing / M. A. Nadeem, M. A. Nawaz, M. Q. Shahid, Y. Doğan, G. Comertpay, M. Yıldız, R. Hatipoğlu,

- F. Ahmad, A. Alsaleh, N. Labhane, H. Özkan, G. Chung, F. S. Baloch // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2018. – Vol.32. – P. 261 – 285.
19. Матвеева, Т. В., Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений / Т. В. Матвеева, О.А. Павлова, Д.И. Богомаз, Л.А. Демкович, А.Е. Лутова // *Экологическая генетика*. – 2011. – №1. – С.32-43.
20. Collard, B.C.Y. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts / B.C.Y. Collard, M.Z.Z. Jahufer, E.C.K. Pang // *Euphytica*. – 2005. – Vol.142. – P. 169-196.
21. Idrees, M. Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity: A Review / M. Idrees, M. Irshad // *European academic research*. – 2014. – V. II. – I.1. – P. 1513-1540.
22. Kant, A. Molecular markers in Plants / R.K. Singh, G. P. Mishra, A. Kant, B. Shashi // *Molecular Plant breeding; Principles and Applications*. – 2008. – Vol.2. – P. 79-96.
23. Schulman, A.H. Molecular markers to assess genetic diversity / A.H. Schulman // *Euphytica*. – 2007. – Vol. 158. – № 3. – P. 313-321.
24. Garrido-Cardenas, J.A. Trends in plant research using molecular markers / J.A. Garrido-Cardenas, C. Mesa-Valle, F. Manzano-Agugliaro // *Planta*. – 2018. – Vol. 247. – № 3. – P. 543-557.
25. Нигматуллина, Н.В. Молекулярные маркеры, применяемые для определения генетического разнообразия и видоидентификации дикорастущих растений / Н.В. Нигматуллина., А.Р. Кулуев, Б.Р. Кулуев // *Биомика*. – 2018. – № 3. – С.290-318.
26. Локтева, Ж.В. Большая Российская Энциклопедия (в 30 т.) : в 30 т. / Ж.В. Локтева, Г.С. Самойлова. – Москва: Научное издательство «Большая российская энциклопедия». – 2005. – Т. 1-30.
27. Николаев, В.А. Ландшафты азиатских степей / В.А. Николаев. – Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1999. – 285 с.

28. Процюк, И.С. Алтайский край. Атлас / И.С. Процюк ; отв. редактор И.П. Заруцкая. – Москва – Барнаул, 1978. – 222с.
29. Ревякина, Н.В. География Алтайского края / Н.В. Ревякина. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2004.
30. Рассыпнов, В.А. Природа Алтая / В.А. Рассыпнов. – Барнаул: АлтГПА, 2009. – 161 с.
31. Пахневич, С.Я. Агроклиматический справочник Алтайского края: справочник / Л. С. Кельчевская, Е. М. Сазанова, И. П. Леонтович [и др.]; под общей редакцией С. Я. Пахневич; Ленинград : Гидрометеиздат, 1971. – 168 с.
32. Мищенко, В. Т. Энциклопедия Алтайского края (в 2 т.) / В. Т. Мищенко [и др.]; Барнаул : Пикет, 1995. – 366с.
33. Ильичев, А.И. География Кемеровской области / А.И. Ильичев, Л.И. Соловьёв. – Кемерово: Кн. изд-во, 1994. – 366 с.
34. Дроздов, Н.И. Енисейский энциклопедический словарь / Н.И. Дроздов. – Красноярск: КОС, 1998. – 735 с.
35. Маркин, С.В. Палеолитические памятники бассейна реки Томи / С.В. Маркин. – Новосибирск: Наука Сиб. отд-ние, 1986. – 175 с.
36. Кислюк, М.Б. Историческая энциклопедия Кузбасса : В 3-х т. : в 3 т. Т. 1 / М.Б. Кислюк, В.В. Бобров. – Кемерово: Познать, 1996. – 380 с.
37. Ресурсы поверхностных вод СССР: Гидрологическая изученность. Т. 16. Ангаро-Енисейский район. Вып. 1. Енисей / под ред. Г. С. Карабаева. — Ленинград : Гидрометеиздат, 1966. — 823 с.
38. Шишов, Л. Л. Классификация и диагностика почв России / Л. Л. Шишов и [и др.] ; под ред. Г.В. Добровольского. – Смоленск: Ойкумена, 2004. – 342 с.
39. Чернов, Г. А. Рельеф Алтае-Саянской горной области : монография / Г. А. Чернов ; отв. редактор В. А. Николаев. – Новосибирск : Наука, 1988. - 206 с.

40. Троицкая, Т. Н. Археология Западно-Сибирской равнины / Т. Н. Троицкая, А. В. Новиков ; отв. редактор В. И. Молодин. – Новосибирск: Новосибирский педагогический университет, 2004. - 136 с.
41. Куприянов, А.Н. Система особо охраняемых природных территорий Алтае-Саянского экорегиона / А.Н. Куприянов. – Кемерово : Азия, 2001. – 173с.
42. Степанов, Н.В. Флора северо-востока Западного Саяна и острова Отдыха на Енисее (г.Красноярск): Монография / Н.В. Степанов. – Красноярск: Красноярский государственный университет, 2006. – 170 с.
43. Степанов, Н.В. Истории о растениях Ергаков / Н.В. Степанов. – Красноярск: РАСТР, 2010. – 144 с.
44. Попов, М.Г. Флора Средней Сибири / М.Г. Попов, Б.К. Шишкин. – Ленинград: Изд-во Акад. наук СССР, 1957.
45. Tukey, J. W. Comparing individual means in the analysis of variance / J. W. Tukey // *Biometrics*. – 1949. – V5. – I.2. – P.99–114.
46. Kassambara, F. Mundt F. Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.7. – 2020.
47. Doyle, J.J. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue / J.J. Doyle, J.L. Doyle // *Phytochemical Bulletin*. – 1987. – V19. –P.11-15.

## Приложение А

### Морфологический анализ 6 популяций кандыков

Pop	N	M	$\sigma^2$	v	mM	Min	Max	Pop	N	M	$\sigma^2$	v	mM	Min	Max
X-1 Длина цветоноса от цветка до листа								X10 - Ширина лепестков							
Esaj1	29	12,35	1,89	14	0,31	9,6	16,3	Esaj1	29	0,63	0,11	18	0,02	0,4	0,8
Esaj2	42	13,03	2,17	17	0,34	9,2	18,6	Esaj2	42	0,87	0,13	15	0,02	0,6	1,2
Esaj3	30	12,95	1,42	11	0,26	10,6	17,2	Esaj3	30	0,91	0,14	15	0,03	0,6	1,2
Esaj4	15	12,38	1,89	15	0,49	9,4	15,6	Esaj4	15	0,77	0,14	19	0,04	0,5	1,1
Esib1	42	14,31	2,82	20	0,44	8,5	19,8	Esib1	42	0,81	0,23	28	0,04	0,4	1,7
Esul	40	12,86	2,1	16	0,33	9,3	18,6	Esul	40	0,49	0,09	19	0,01	0,3	0,9
X2 -Длина от листа до луковицы								X9/X10 - Форма лепестков							
Esaj1	29	6,86	1,67	47	0,59	2,1	14,4	Esaj1	29	5,62	1,01	19	0,2	4,25	8,5
Esaj2	36	5,9	2,46	42	0,38	1,6	10,4	Esaj2	42	4,38	0,68	16	0,11	3,2	6,29
Esaj3	23	7,35	2,35	32	0,43	2,4	11,2	Esaj3	30	4,09	0,48	12	0,09	3,11	5,17
Esaj4	15	5,77	1,67	29	0,43	3	9,2	Esaj4	15	5,42	1,05	19	0,27	3,89	8
Esib1	40	7,76	2,13	27	0,34	4,2	12,2	Esib1	42	4,49	0,86	19	0,13	2,36	6,17
Esul	38	8,78	2,41	28	0,39	3,3	14,2	Esul	40	6,24	1,08	17	0,17	3,56	8,2
X1/X2								X11 - Длина тычиночной нити							
Esaj1	29	2,32	0,7	63	0,27	0,72	6,71	Esaj1	29	1,16	0,09	8	0,02	1	1,4
Esaj2	36	2,68	1,4	52	0,22	1,22	7,25	Esaj2	42	1,21	0,13	11	0,02	1	1,6
Esaj3	23	2	0,84	42	0,15	1,17	4,71	Esaj3	30	1,19	0,1	9	0,02	1	1,4
Esaj4	15	2,3	0,7	30	0,18	1,38	4,1	Esaj4	15	1,19	0,15	12	0,04	0,9	1,4
Esib1	40	1,98	0,69	35	0,11	0,89	3,64	Esib1	42	1,23	0,21	17	0,03	0,9	1,9
Esul	38	1,54	0,46	30	0,07	0,99	3,06	Esul	40	1,03	0,12	11	0,02	0,9	1,3
X3 - Длина луковицы								X12 - Ширина тычиночной нити							
Esaj1	-	-	-	-	-	-	-	Esaj1	29	0,23	0,05	20	0,01	0,2	0,3
Esaj2	6	2,55	0,24	10	0,1	2,2	2,9	Esaj2	42	0,22	0,04	18	0,01	0,2	0,3
Esaj3	-	-	-	-	-	-	-	Esaj3	30	0,23	0,05	20	0,01	0,2	0,30
Esaj4	9	2,42	0,51	21	0,17	1,9	3,4	Esaj4	15	0,27	0,06	23	0,02	0,2	0,4
Esib1	11	4,12	0,54	13	0,16	3,1	4,8	Esib1	42	0,13	0,05	39	0,01	0,1	0,3
Esul	-	-	-	-	-	-	-	Esul	40	0,1	0	0	0	0,1	0,1
X4 - Ширина луковицы								X13 - Длина тычиночной нити до сужения							
Esaj1	-	-	-	-	-	-	-	Esaj1	29	0,81	0,09	11	0,02	0,7	1
Esaj2	6	0,98	0,11	12	0,05	0,9	1,2	Esaj2	42	0,78	0,09	12	0,01	0,7	1,1
Esaj3	-	-	-	-	-	-	-	Esaj3	30	0,8	0,1	13	0,02	0,7	1,2
Esaj4	9	0,99	0,12	12	0,04	0,9	1,2	Esaj4	15	0,8	0,15	19	0,04	0,6	1
Esib1	11	0,7	0,15	20	0,05	0,6	1,1	Esib1	42	1,1	0,2	18	0,03	0,8	1,8
Esul	-	-	-	-	-	-	-	Esul	40	0,93	0,12	13	0,02	0,8	1,2
X5 - Длина листа l								(X11-X13)/X13 - Отношение узкой части тычиночной нити и широкой							
Esaj1	29	11,27	1,25	11	0,23	8,7	14,1	Esaj1	29	0,44	0,11	25	0,02	0,1	0,57
Esaj2	41	12,57	2,43	19	0,37	8,3	20,6	Esaj2	42	0,57	0,16	28	0,02	0,09	0,86
Esaj3	30	11,87	1,89	16	0,35	9,2	8,9	Esaj3	30	0,51	0,13	25	0,02	0,08	0,71
Esaj4	15	11,09	1,9	17	0,49	7,6	14,9	Esaj4	15	0,52	0,2	38	0,05	0,2	0,83
Esib1	41	11,72	1,88	16	0,29	9,1	16,6	Esib1	42	0,12	0,04	37	0,01	0,06	0,25
Esul	39	10,8	2,14	20	0,34	6,1	16,6	Esul	40	0,11	0,02	20	0	0,08	0,22

Окончание приложения А

X6 - Ширина листа 1								X13/X12 - Форма широкой части тычичной нити							
Esaj1	29	2,6	0,6	23	0,11	1,7	4,2	Esaj1	29	3,67	0,62	17	0,12	2,33	5
Esaj2	41	3,82	1,13	30	0,17	1,6	6,4	Esaj2	42	3,63	0,63	18	0,1	2,33	4,5
Esaj3	30	3,51	0,99	28	0,18	2,4	5,9	Esaj3	30	3,61	0,87	24	0,16	2,33	6
Esaj4	15	2,96	0,57	19	0,15	2,1	4,1	Esaj4	15	3,12	0,82	26	0,21	2	4,5
Esib1	41	2,77	0,66	24	0,1	1,2	4,2	Esib1	42	9,51	3,12	33	0,48	4,5	18
Esul	39	2,39	0,63	27	0,1	1,4	4,1	Esul	40	9,3	1,18	13	0,19	8	12
X5/X6 - Форма листа 1								X14 - Длина пыльника							
Esaj1	29	4,49	0,83	18	0,15	3	6,71	Esaj1	29	0,53	0,05	9	0,02	0,5	0,6
Esaj2	41	3,46	0,75	22	0,12	2,56	5,19	Esaj2	42	0,55	0,07	13	0,01	0,5	0,7
Esaj3	30	3,54	0,75	21	0,14	2,43	5,17	Esaj3	30	0,54	0,05	9	0,01	0,5	0,6
Esaj4	15	3,8	0,61	16	0,16	2,88	4,97	Esaj4	15	0,55	0,06	12	0,02	0,5	0,7
Esib1	41	4,32	0,91	21	0,14	2,83	8,08	Esib1	42	0,85	0,14	16	0,02	0,7	1,4
Esul	39	4,71	1,13	24	0,18	3,12	8,5	Esul	40	0,68	0,11	16	0,02	0,5	0,9
X7 - Длина листа 2								X15 - Длина столбика и рыльца пестика							
Esaj1	29	10,9	1,35	12	0,25	8,2	13,5	Esaj1	28	1,16	0,1	9	0,01	1	1,3
Esaj2	42	12,33	2,56	21	0,39	7,9	19,8	Esaj2	42	1,3	0,11	9	0,02	1,1	1,5
Esaj3	30	11,59	1,8	16	0,33	8,7	17,6	Esaj3	30	1,21	0,13	10	0,02	1	1,5
Esaj4	15	10,27	1,52	15	0,39	7,8	12,4	Esaj4	14	1,24	0,13	11	0,03	1	1,4
Esib1	42	11,16	1,75	16	0,27	8,6	15,1	Esib1	39	1,62	0,21	13	0,03	1,3	2,3
Esul	39	10,17	1,92	19	0,31	6,3	15,9	Esul	40	1,19	0,24	20	0,04	1	1,6
X8 - Ширина листа 2								X16 - Длина лепестков по белую окраску							
Esaj1	29	2,07	1,9	36	0,35	0,9	3,5	Esaj1	29	1,16	0,16	14	0,03	0,9	1,5
Esaj2	42	2,78	0,96	34	0,15	1,2	5,1	Esaj2	42	1,25	0,22	17	0,03	0,9	1,7
Esaj3	30	2,57	0,61	24	0,11	1,5	4	Esaj3	30	1,17	0,16	14	0,03	0,9	1,6
Esaj4	15	2,23	0,58	26	0,15	1,3	3,6	Esaj4	15	1,32	0,32	24	0,08	0,8	1,8
Esib1	42	1,56	0,49	31	0,08	0,8	2,8	Esib1	42	1	0,22	22	0,03	0,6	1,6
Esul	39	1,24	0,44	35	0,07	0,7	2,3	Esul	40	1	0,17	17	0,03	0,7	1,5
X7/X8 - Форма листа 2								X9/X16 - Расположение белой окраски							
Esaj1	29	6,69	2,38	36	0,44	0,92	12,33	Esaj1	29	3,05	0,49	16	0,09	2,23	4,11
Esaj2	42	4,74	1,09	23	0,17	3,1	7,2	Esaj2	42	3,04	0,41	13	0,06	2,44	4
Esaj3	30	4,66	0,9	19	0,16	3,17	6,73	Esaj3	30	3,18	0,41	13	0,08	2,17	4,22
Esaj4	15	4,77	0,92	19	0,24	3,44	6,62	Esaj4	15	3,19	0,67	21	0,17	2,47	4,88
Esib1	42	7,62	2,01	26	0,31	4,3	13,43	Esib1	42	3,55	0,44	12	0,07	2,62	4,5
Esul	39	8,91	2,63	30	0,42	4	15,11	Esul	40	3,03	0,47	15	0,07	2,27	4,23
X9 - Длина лепестков															
Esaj1	29	3,47	0,25	7	0,05	2,9	4,1								
Esaj2	42	3,75	0,43	11	0,07	2,9	4,9								
Esaj3	30	3,69	0,47	13	0,09	2,6	4,9								
Esaj4	15	4,04	0,49	12	0,13	3,3	5,1								
Esul	40	2,99	0,46	15	0,07	2,78	4,1								
Примечание: N – количество образцов, M - среднее арифметическое значение, m <sub>M</sub> - ошибка репрезентативности среднего, σ <sup>2</sup> - среднее квадратичное отклонение, v - коэффициент вариации, min - минимальное значение, max – максимальное значение															

## Приложение Б

### Результаты теста Тьюки

	X1	X2	X1/X2	X5	X6	X5/X6	X7	X8	X7/X8	X9	X10	X9/X10	X11	X12	X13	(X11- X13)/X1	X13/X12	X14	X15	X16	X9/X16
Esaj2- Esaj1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Esaj3- Esaj1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Esaj4- Esaj1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Esib1- Esaj1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Esul- Esaj1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0
Esaj3- Esaj2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Esaj4- Esaj2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Esib1- Esaj2	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Esul- Esaj2	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
Esaj4- Esaj3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Esib1- Esaj3	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Esul- Esaj3	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
Esib1- Esaj4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
Esul- Esaj4	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
Esul- Esib1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1

## Окончание приложения Б

Примечание: 1 - статистически значимые различия между сравниваемыми популяциями, 0 – нет статистически значимых различий между сравниваемыми популяциями, длина цветоноса (X1), длина от листа до луковицы (X2), длина (X3) и ширина (X4) луковицы, длина (X5) и ширина (X6) первого листа, длина (X7) и ширина (X8) второго листа, длина (X9) и ширина (X10) лепестков, длина (X11) и ширина (X12) тычиночной нити, длина тычиночной нити до сужения (X13), длина пыльника (X14), длина столбика и рыльца пестика (X15), длина лепестков по белую окраску (X16). Вычислены относительные признаки: форма первого (X5/X6) и второго (X7/X8) листа, форма лепестков (X9/X10), отношение узкой и широкой части тычиночной нити ((X11-X13)/X13), форма широкой части тычиночной нити (X13/X12), расположение белой окраски (X9/X16)



Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра геномики и биоинформатики

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

   
подпись                      инициалы, фамилия

«20»  2024г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Сравнительный морфолого-генетический анализ видов рода *Erythronium* в  
горах Южной Сибири

тема

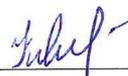
06.04.01 Биология

код и наименование направления

06.04.01.06. Геномика и биоинформатика

код и наименование магистерской программы

Руководитель  профессор, д.б.н. Ямских И.Е.  
подпись, дата                      должность, ученая степень                      фамилия инициалы,

Выпускник  Кучма Е.А.  
подпись, дата                      фамилия инициалы,

Рецензент  С.Н.С., К.Б.Н.  Ямских И.Е.  
подпись, дата                      должность, ученая степень                      фамилия инициалы,

Красноярск, 2024