

© А.Н. МАРИНИЧЕВА^{1*}, И.Е. ЯМСКИХ¹, Н.В. СТЕПАНОВ¹, М.Г. КУЦЕВ^{1,2}

МОРФОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *ANEMONE JENISSEENSIS* (RANUNCULACEAE) НА ЮГЕ ПРИЕНИСЕЙСКОЙ СИБИРИ

¹Сибирский федеральный университет
660041, Красноярск, пр. Свободный, 79
E-mail: alexandra.marinicheva@outlook.com

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

Поступила в редакцию: (дата ставится редакцией)

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), светлохвойных (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 генетического разнообразия (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.

© A.N. MARINICHEVA^{*}, I.E. YAMSKIKH¹, N.V. STEPANOV¹, M.G. KYTSEV^{1,2}

MORPHOLOGICAL AND GENETIC ANALYSIS OF ANEMONE JENISSEENSIS (RANUNCULACEAE) COENOPOPULATIONS IN THE SOUTH OF PRIENISEI SIBERIA

¹ Siberian Federal University
Svobodny pr. 79, Krasnoyarsk, 660041, Russia
E-mail: alexandra.marinicheva@outlook.com

² Altai State University
pr. Lenina 61, Barnaul, 656049, Russia
Received: (дата ставится редакцией)

The genetic variability and phenotypic plasticity of 10 natural coenopopulations of the Siberian endemic *Anemone jenseensis* (Korsh.) Krylov, which grows in plant communities of the Krasnoyarsk forest-steppe, Western and Eastern Sayan, were studied. It has been established that this species has a relatively wide phytocenotic range and can be found in small-leaf forests (birch, aspen forests), light coniferous forests (pine forests), mixed forests, in floodplain willows, and on cuttings. The average number of shoots per 1 m² varies from 15 to 31 pcs. The maximum sizes of vegetative organs, indicators 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 *Anemone jenseensis* was noted in the cutting areas, however, the level of intrapopulation phenotypic plasticity and seed productivity indices vary within the average values. Genetic variability of coenopopulations of *Anemone jenseensis* was detected using the ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeats) method. The total percentage of polymorphic loci is 100. The studied coenopopulations are characterized by an 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 the leaf. Geographical separation of coenopopulations has not been identified.

Key word: *Anemone jenseensis*, endemic species, morphological and genetic analyses, coenopopulations, ISSR-PCR, genetic diversity, Southern Siberia, Krasnoyarsk Kray, Khakassia.

Одной из наиболее интересных и относительно слабо изученных в Южной Сибири является группа весенних эфемероидов, принадлежащих к роду *Anemone*: *Anemone reflexa* Steph., *A. jenseensis* (Korsh.) Krylov, *A. altaica* (C. A. Mey) 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. jenseensis*. Распространена в пределах Красноярского края, Хакасии. Встречается в лесах Томской, Кемеровской, Иркутской областей. Растение включено в «Красную книгу Иркутской области» (2010) – категория 2 (V), уязвимый вид.

Для разработки методов сохранения генетического разнообразия редких видов необходимы сведения о полиморфизме и генетической структуре их ценопопуляций (Filipov, Andronova, 2017). Работы по изучению генетического разнообразия

представителей рода *Anemone* проводились преимущественно за рубежом (Schuettpelz 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.

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

Цель исследований — изучение модификационной и генетической изменчивости природных ценопопуляций (ЦП) *A. jensseensis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала проводился в период 2007-2018 гг. в Красноярской лесостепи, в горах Западного и Восточного Саяна (рис.1.). Объектом исследований явились 10 ценопопуляций *A. jensseensis*. На первом этапе исследований изучали фитоценоотическую приуроченность ветреницы. Описано свыше 50 местообитаний вида. Геоботанические описания проведены по общепринятым методикам (Voropov, 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 таблице 1.

Измерения параметров вегетативных органов и показателей семенной продуктивности ветреницы 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" (Роров, 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 (Dyugyagina, Ivanova, 1985). У побегов ветреницы енисейской измерялись следующие параметры: длина стебля (x1), длина цветоноса (x2), длина черешка (x3), длина (x4) и ширина (x5) центрального сегмента листа, соотношение длины и ширины листа (x6), соотношение длины стебля и длины листа (x7), глубина выреза на центральном сегменте (x8), соотношение длины выреза и длины листа (x9), количество зубчиков (x10), длина (x11) и ширина (x12) бокового сегмента листа, количество зубчиков на боковом сегменте (x13), длина выреза на боковом сегменте (x14), соотношение длины выреза и длины листа (x15), длина (x16) и ширина (x17) лепестков, количество цветков (x18), реальная (c1) и потенциальная (c2) семенные продуктивности; коэффициент семенификации (c3).

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 (Cv). Характер распределения 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 (Cv), 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 изучаемых ценопопуляций вида выявляли 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 DimomdDNA (ООО «АБТ», Россия). Для ПЦР использовали смесь БиоМастерHS-Taq ПЦР-Color 2x(ООО «Биолабмикс», г.Новосибирск).

ISSR-PCR проводили в 20 мкл смеси (6 мкл H₂O; 10 мкл смеси БиоМастерHS-Taq ПЦР-Color 2х, 2 мкл ДНК; 2 мкл 10 mM праймера) на амплификаторе C1000 Thermal Cycler BioRad с использованием реактивов производства ООО «БиолабМикс» (г.Новосибирск) и ЗАО «Евроген» (г.Москва). Амплификацию проводили по следующей программе: 95°С – 5 мин; 13 циклов: 95° С – 20 сек, 55° С – 45 сек с последующим понижением температуры на 0.7°С в каждом цикле, 72° С - 90 сек; 25 циклов: 95° С – 20 сек, 44° С – 30 сек, 72° С – 90 сек; завершающая стадия: 72° С – 10 мин, охлаждение при 4° С. 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 GelDocXR (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 окрестностях 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 данный показатель 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 м² варьирует от 15 до 31 шт. Максимальная плотность *A. jennisensis* зафиксирована для ЦП, произрастающей в окрестностях г. Красноярска (Aj9) – 30.7±5.7 шт./м². В осиново-березовом лесу (Aj8) отмечено 24.2±5.8 побегов на 1 м². Минимальное число побегов было выявлено на вырубке под ЛЭП (Aj10*, 14.6±4.1 шт./м²) и в березово-сосновом лесу орляково-разнотравно-злаковом в окрестностях с. Ермаковского, Западный Саян (Aj2, 15±2.5 шт./м²).

В результате изучения внутривидовой 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 расчлененности центрального и боковых сегментов листа – от почти цельных до отдельных (рис. 3). Причем растения с разными типами расчленения листьев могут встречаться в пределах одной ценопопуляции. Три западносаянские 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-злаковом (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 западносаянских ЦП Aj3 и Aj5, а также для Aj9, находящейся в окрестностях г. Красноярска. Минимальные показатели всех вегетативных признаков характерны для растений ветреницы енисейской, произрастающих на вырубке под ЛЭП (Aj10*) (табл. 2).

Высокие показатели реальной семенной продуктивности *A. jennisensis* 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 внутривидовой изменчивости, что свидетельствует о длительно действующих однотипных стрессовых условиях (табл. 2, 3, рис. 2). Минимальные показатели семенной продуктивности (18.9 плодов на генеративный побег), отмечены для ЦП Ај6 (березово-сосновый лес папоротниково-широкотравный, 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 Ај7 и Ај2, а также примкнувшая к ним Ај10*, произрастающая на вырубке под ЛЭП. Для особей данных ЦП отмечаются небольшие размеры листьев и слабое расчленение боковых сегментов. Вторым кластером формируют два подкластера. Первый объединяет красноярские ЦП Ај8 и Ај9 с относительно крупным центральным сегментом листа. Боковой сегмент средних размеров, слабо расчленен. Вторым подкластером 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 Ај1, Ај4* и Ај6 отмечаются крупные и глубоко расчлененные боковые сегменты.

Генетический полиморфизм ветреницы енисейской изучен на примере ЦП, произрастающих в лесах Западного Саяна (Ај1, Ај3, Ај5-Ај7), Восточного Саяна (Ај8) и Красноярской лесостепи (Ај9). В ходе анализа выявлено 111 фрагментов ДНК. Суммарный процент полиморфизма составляет 100. Число амплифицированных фрагментов 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 западносаянской ЦП Ај3 ($P=71.17\%$; $I=0.275$; $h=0.404$) и красноярской Ај9 ($P=70.27\%$; $I=0.249$; $h=0.373$). Средними показателями генетического разнообразия характеризуются западносаянские ЦП Ај1 ($P=63.93\%$; $I=0.209$; $h=0.32$) и Ај5 ($P=63.06\%$; $I=0.204$; $h=0.313$). Минимальные значения отмечены для Ај7 ($P=55.86\%$; $I=0.189$, $h=0.287$).

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

Генетические дистанции М. Нея (Nei, 1972) минимальны между западносаянскими Ај7 и Ај3 ($D=0.0892$). Максимальные расстояния зафиксированы между ЦП Ај6 и Ај7 ($D=0.2788$) (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 западносаянские ЦП Ај3 и Ај7, во второй – красноярские Ај8 и Ај9 и западносаянская Ај5. Вторым кластер образуют популяции Ај1 и Ај6, 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 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. jenseensis*, произрастающих в лесах Западного Саяна (Ај3, Ај5) и Красноярской лесостепи (Ај9). На вырубке под ЛЭП (Ај10*) 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. jenseensis* демонстрируют очень высокую степень генетической дифференциации ($G_{st}=0.3316$). Важным диагностическим признаком, позволяющим разделить ЦП ветреницы енисейской, является степень расчленения сегментов листа. ЦП Ај1 и Ај6, характеризующиеся крупными расчлененными боковыми долями листа, формируют морфологически и генетически обособленную группу. Четкого разделения ценопопуляций по географическому принципу не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[Barykina] 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. — African Journal of Biotechnology. 8 (20): 5215-5224

[Dyuryagina, Ivanova] Дюрягина Г.П., Иванова М.М. 1985. Характеристика ценопопуляций редких видов флоры Бурятии. — Ботан. журн. 70 (11): 1529–1538.

[Filiprov, Andronova] Филиппов Е.Г., Андропова 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. DOI: 10.1371/journal.pone.0174792.

[Krasnaya...] Красная книга Иркутской области. 2010. Иркутск: Время странствий. 478 с.

[Luferov, Starodubtsev] Луферов А.Н., Стародубцев В.Н. 1995 Семейство лютиковые (Ranunculaceae). — В кн.: Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Т.7. Наука. 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. DOI: 10.1093/aob/mcs128

Nei, 1972 Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals / M. Nei // *Genetics*. – 1978. – V. 89. – P. 583-590.

[Popov] Попов М.Г. 1957. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). — В кн.: Флора Средней Сибири. Т.1. Изд-во АН СССР. С. 250–274.

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. — *Biological Control*. 1.48: 84–91.

[Schmidt] Шмидт В. М. 1984. Математические методы в ботанике. — Л.: изд-во Ленингр.ун-та. 288с.

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. DOI:10.3390/ijms13044889

[Timokhina] Тимохина С.А. 1993. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). — В кн.: Флора Сибири. Т.6. Наука. С.145–149.

[Voronov] Воронов А.Г. 1973. Геоботаника. Высшая школа. 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 *Anemone altaica* (С.А. Мей.) Holub в горах Южной Сибири на основе морфологических данных и ISSR-PCR анализа. — *Turczaninowia*. 14(1): 8–16.

[Yuzepchuk] Юзепчук С.В. 1937. Семейство лютиковые (Ranunculaceae). — В кн.: Флора СССР. Т.7. Изд-во АН СССР. 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. DOI 10.1007/s00606-014-1082-0

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] — Byull. 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. — African Journal of Biotechnology. 8 (20): 5215-5224

Dyuryagina G.P., Ivanova. M.M. 1985. Kharakteristika tsenopopulyatsiy redkikh vidov flory Buryatii [Characteristics of a coenopopulations of a rare species of flora Buryatia]. — Bot.Zhurn. 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): 310–323. (In Russ.)

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. DOI: 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. T.7. Nayka. P. 9–145. (In Russ.)

Mamaev S.A. 1972. Formy vnutrividovoy izmenchivosti drevesnykh rasteniy [Forms of intraspecific variability of woody plants]. M. 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. Polymorphism of *Anemone reflexa* (Ranunculaceae) populations in the mountains of Southern Siberia. — Bulletin of Ksau. 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.

Mingzhou S., Xiao Y., Fengxue S., Lin L., Mingrui L., Linfeng L., Hongxing X. 2012. Development of Eighteen Microsatellite Markers in *Anemone amurensis* (Ranunculaceae) and

Cross-Amplification in Congeneric Species. — Int. J. Mol. Sci. 13.: 4889-4895. DOI:10.3390/ijms13044889

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. DOI: 10.1093/aob/mcs128

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. — Biological Control. 1.48: 84–91.

Popov M.G. 1957. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculacea Juss.]. In: Flora of Central Siberia. T.1. Izd-vo AN SSSR. P. 250–274. (In Russ.)

Red data book of nature of the Irkutsk region. 2010. Irkutsk: Vremya stranstviy. 478 p. (In Russ.)

Schmidt V. M. 1984. Matematicheskiye metody v botanike [Mathematical Methods in Botany]. — Leningrad.: izd-vo Leningr.universiteta. 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. DOI:10.3390/ijms13044889

Timokhina S.A. 1993. Semeystvo lyutikovyye (Ranunculaceae) [Ranunculacea Juss.]. — In: Flora of Siberia. T.6. Nayka. P. 145–149. (In Russ.)

Voronov A.G. 1973. Geobotanika [Geobotany]. Vysshaya shkola. 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) [Ranunculacea Juss.]. — In: Flora SSSR.. T.7. Izd-vo AN SSSR. 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. DOI 10.1007/s00606-014-1082-0

Рис. 1. Расположение ценопопуляций *Anemone jenseensis* (нумерация в соответствии с таблицей 1).

Fig. 1. Map of the location of *Anemone jenseensis* coenopopulations (numbering in accordance with Table 1)

Рис. 2. Внутрипопуляционная изменчивость морфологических признаков *Anemone jenseensis*: x2 – длина цветоноса, x5 – ширина центрального сегмента листа, x12 – количество зубчиков на боковом сегменте, x14 – длина выреза на боковом сегменте, c1 – реальная семенная продуктивность.

Fig. 2. Intrapopulation variability of morphological characters of *Anemone jenseensis*: x2 – peduncle length, x5 – central segment leaf width, x12 – number of teeth on the side segment, x14 – depth of the cut on the lateral segment, c1 – real seed productivity.

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

Fig. 3. Individuals of *Anemone jenseensis* with varying degrees of divides of leaf blades (photo by N.V. Stepanov).

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

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

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

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