

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

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ М.И. Гладышев
подпись инициалы, фамилия

«_____» _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Разнообразие водных лютиков секции шелковников (*Ranunculus* sect.
Batrachium, Ranunculaceae) в среднем течении реки Енисей

Направление подготовки 06.04.01 – Биология

Профиль 06.04.01.04 – Гидробиология и ихтиология

Руководитель _____ доцент, к.б.н. И.П. Филиппова
подпись, дата должность, учёная степень инициалы, фамилия

Выпускник _____ И.Д. Минаков
подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент _____ в.н.с., д.б.н. Л.М. Киприянова
подпись, дата должность, учёная степень инициалы, фамилия

Красноярск 2023

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Разнообразие водных лютиков секции шелковников (*Ranunculus* sect. *Batrachium*, Ranunculaceae) в среднем течении реки Енисей» содержит 73 страницы текстового документа, 19 иллюстраций, 7 таблиц, 1 приложение и 86 использованных источников.

МАКРОФИТЫ, ЕНИСЕЙ, RANUNCULUS, BATRACHIUM, МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.

Объектом исследования являлись водные лютики (*Ranunculus*) секции шелковников (*Batrachium*) из среднего течения р. Енисей.

Цель работы: проанализировать видовое и морфологическое разнообразие водных лютиков (*Ranunculus*) секции шелковников (*Batrachium*) произрастающих в среднем течении реки Енисей.

В результате работы была проведена ревизия шелковников в среднем течении р. Енисей, оценена таксономическая значимость и вариабельность видовых признаков растений, которые указываются в литературе как ключевые. Проведён филогенетический анализ енисейских шелковников по ITS региону.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Характеристика шелковников	6
1.2. Виды шелковников в Приенисейской Сибири	13
1.3. Морфометрическое и генетическое изучение шелковников	21
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	27
1.1. Район и материалы исследования.....	27
1.2. Анализ морфологических признаков	28
1.3. Филогенетический анализ.....	33
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	36
3.1. Результаты морфологического анализа	36
3.2. Результаты филогенетического анализа	55
3.3. Обсуждение результатов.....	58
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	62
Приложение А	72

ВВЕДЕНИЕ

Водные лютики секции шелковников являются таксономически сложной группой водных растений. Сложности в систематике объясняются прежде всего частой полиплоидией, гибридизацией и высокой фенотипической изменчивостью (Cook, 1966; Koutecký et al., 2022; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Также следует отметить, что у погружённых макрофитов вегетативное размножение преобладает над семенным (Vilas et al., 2017; Бобров, Мовергоз, 2014; Мовергоз, Бобров, 2016). В связи с этим у шелковников часто отсутствуют важные для определения признаки генеративной сферы. Все вышеуказанные проблемы наиболее выражены именно в условиях крупных рек, подобных Енисею, которые являются для данной группы очагом разнообразия и видообразования (Bobrov et al., 2022; Butkuvienė et al., 2020; Prančl et al., 2018).

Флора макрофитов Енисея слабо изучена, а имеющиеся в литературе данные по водным лютикам региона достаточно противоречивы. В частности, многие указываемые виды по современным данным имеют строго европейский ареал, а сообщения об их местонахождении на территории Сибири по-видимому связаны с ложной идентификацией местных полиморфных видов (Бобров, Мочалова, 2013; Бобров, Мочалова, 2014; Иванова и др., 2017). Кроме того, в бассейнах крупных рек шелковники часто существуют в виде так называемых «гибридных роёв» (Koutecký et al., 2022; Prančl et al., 2018; Zalewska-Gałosz, Jorek, Pniski, 2014), а для бассейна Енисея ни одного гибрида не указано. В тоже время шелковники формируют сообщества с большой биомассой в крупных реках Голарктики, в том числе на всём протяжении Енисея, являясь в них доминантами и субдоминантами, оказывая существенное влияние на гидрологию и биоту отдельных участков (Zotina, 2014; Бобров, Мовергоз, 2014). В результате информация о видовом составе шелковников является важной для проведения широкого спектра научных исследований в основном русле Енисея, будь то изучение антропогенного воздействия на

экосистемы (Kravchuk et al., 2021), или радиоэкологический мониторинг (Bolsunovsky, Dementyev, Trofimova, 2020).

Поскольку морфологическая идентификация по вышеуказанным причинам затруднена, мы также обращаемся к молекулярно-генетическим методам. Особенно они ценны для выявления потенциальных гибридов. Данные методы широко используются при изучении водных лютиков секции шелковников, демонстрируя высокую степень эффективности, позволяя разрешать многие вопросы, связанные с их таксономией. Наибольшей способностью к диагностике видов шелковников, согласно литературе, обладают межгенный спейсер *psbA-trnH* и ядерно-рибосомальный ITS-регион, однако часто используются и другие нуклеотидные последовательности (Lumbreras et al., 2014; Telford et al., 2011; Bobrov et al., 2015; Bobrov et al., 2022; Butkuvienė et al., 2020; Gebler et al., 2022; Koutecký et al., 2022; Wiegleb, Desfayes, Bobrov, 2022; Zalewska-Gałosz, Jopek, Ilnicki, 2014).

Цель работы: проанализировать видовое и морфологическое разнообразие водных лютиков (*Ranunculus*) секции шелковников (*Batrachium*) произрастающих в среднем течении реки Енисей.

Задачи:

1. Изучить морфологию произрастающих в основном русле среднего Енисея шелковников.
2. Провести филогенетический анализ шелковников с использованием молекулярного маркера ITS.
3. Выявить виды и возможные гибриды шелковников среднего Енисея.
4. Оценить распространение видов шелковников в среднем Енисее.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Характеристика шелковников

Шелковники (*Batrachium* (DC.) Gray) являются группой водных лютиков (*Ranunculus* L.) из семейства лютиковых (Ranunculaceae Juss.). От других лютиков они отличаются наличием сильно рассечённых нитевидных листьев (капиллярные листья), белыми лепестками с жёлтым основанием (кроме *R. flavidus* (Hand.-Mazz.) C.D.K. Cook) и поперечно-морщинистыми плодами.

Изначально в 1753 г. С. Linnaeus выделил 2 вида этой группы водных растений в составе рода *Ranunculus* (Linnaeus, 1753). В 1818 г. А.Р. de Candolle описывал 5 видов, и выделил шелковники в отдельную секцию в роде *Ranunculus – Batrachium* (de Candolle, 1818). В 1821 г. S.F. Gray, описывал уже 7 видов шелковников, и придал выделенной А.Р. de Candolle секции статус самостоятельного рода (Gray, 1821). В 1863 г. М.В.-С. Du Mortier, ссылаясь на необходимость выделения естественных групп в живой природе и отличительные особенности шелковников, также принял группу как род, описывая в нём 24 вида (Du Mortier, 1863). Первую ревизию шелковников опубликовал W.P. Hiern в 1871 г., в ней он рассматривает все накопившиеся в мировой литературе того времени названия и указывает на высокую фенотипическую изменчивость водных лютиков, трактуя все таксономические комбинации как формы одного вида рода *Ranunculus* (Hiern, 1871). Следующей важной вехой в изучении группы является монографическое исследование (Cook, 1966), в котором автор придал шелковникам ранг подрода, подробно описал морфологию, числа хромосом и гибриды, им признаётся 20 таксонов, для которых он обнаружил 302 таксономических названия. Русскоязычные авторы преимущественно понимали шелковники как представителей самостоятельного рода (Кречетович, 1937; Тимохина, 1993; Цвелёв, Гринталь, 2001), но бывали и исключения (Крылов, 1931). Таким образом, из-за ряда объективных трудностей в систематике данной группы водных растений

мнения относительно таксономии шелковников в научном сообществе сильно разнились. Не было даже договорённости о том, к какому уровню относить таксон. В тоже время существовало множество биномиальных названий и концепций тех или иных видов.

По современным представлениям шелковники являются монофилетической группой ранга секции в роде *Ranunculus* с около 30 видами и множеством гибридов. По молекулярным данным шелковники располагаются в одной кладе с некоторыми наземными желтоцветковыми лютиками, пусть и образуя кладу *Batrachium* (Hörandl et al., 2005; Hörandl, Emadzade, 2012; Koutecký et al., 2022; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Также следует отметить высокую изменчивость листьев в роде *Ranunculus*, на фоне которой капиллярные листья не выглядят так необычно, существование наземных лютиков с белыми цветками (например, *R. seguieri* Vill.) и шелковника с жёлтыми (*R. flavidus* (Hand.-Mazz.) C.D.K. Cook), и тот факт, что не все лютики-гидрофиты принадлежат секции *Batrachium* (на территории Сибири это, например, *R. radicans* C. A. Mey. и *R. gmelinii* DC.).

В данной группе макрофитов достаточно часто встречаются гибриды. Например, для *R. kauffmannii* Clerc известно минимум 3 гибрида (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). При этом стоит разделять гибриды, и виды гибридогенного происхождения (тот же *R. kauffmannii* является таковым). Видами считаются фертильные и стабильно самовоспроизводящиеся на протяжении многих поколений таксоны. Гибридами же называют растения довольно недавнего происхождения, с пониженной фертильностью или полной стерильностью (часто у них встречается клейстогамия и/или пыльца неправильной формы (Cook, 1966; Les, Philbrick, 1993; Мовергоз и др., 2011)), иногда способных размножаться только вегетативно (Koutecký et al., 2022; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Гибриды также имеют морфологические признаки промежуточные между родительскими видами. Не стоит забывать и о возможности возвратного скрещивания между гибридом и родительскими таксонами, в том числе видами гибридогенного происхождения,

которое может привести к возникновению целой плеяды гибридов, или, так называемого, «гибридного роя» (Koutecký et al., 2022; Prančl et al., 2018; Zalewska-Gałosz, Jopek, Ilnicki, 2014).

В секции шелковников также часто встречается полиплоидия. Гаплоидное число хромосом шелковников равно восьми. Существуют диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные формы, иногда встречаются также триплоидные и пентаплоидные (Cook, 1966; Prančl et al., 2018; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). При культивации в одинаковых условиях диплоиды и тетраплоиды различимы, однако при сравнении растений из дикой природы различить их невозможно за счёт морфологической пластичности (Cook, 1966). У *R. trichophyllus* и вовсе существует два цитотипа (А и В), которые произрастают в различных местообитаниях (не известковые и известняковые воды соответственно) и имеют различное географическое распределение. Эти цитотипы отличаются по размеру генома и его последовательности, а также незначительно отличаются по плазмидной ДНК (Koutecký et al., 2022; Prančl et al., 2018; Бобров и др., 2015). Обнаружены в секции также миксоплоидия и добавочные В-хромосомы (Бобров и др., 2015). Характерно, что диплоидные виды не демонстрируют разброс чисел хромосом, в то время как на тетраплоидном уровне зарегистрирована наибольшая вариабельность (Prančl et al., 2018; Бобров и др., 2015). Изменчивость числа хромосом вносит значительный вклад в изменчивость морфологических признаков, поскольку физиология и онтогенез растений напрямую связаны с кариотипом. Эта изменчивость служит механизмом адаптации к экстремальным условиям среды. Во-первых, она наблюдается именно у растений в морской литорали и бурных участках рек. Во-вторых, миксоплоиды чаще своих сородичей размножаются семенами, продуцируя потомков с генетической неоднородностью, что ещё сильнее ускоряет адаптацию (Бобров и др., 2015).

Морфологические признаки у водных лютиков имеют высокую вариабельность даже в пределах одного чистого вида, но некоторые из них проявляют высокую стабильность. Наиболее часто приводимые в литературе

вегетативные признаки для определения вида: длина всего листа, её отношение к соседнему междоузлию, длина черешка, отношение длин частей листа между собой, длина конечного сегмента листа, число делений и конечных сегментов листа, жёсткость и пространственная ориентация листа (слипается ли он вне воды в кисточку), форма прилистника, наличие и характер гетерофиллии (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017; Мовергоз, Бобров, 2016; Тимохина, 1993). Тем не менее, большинство этих признаков обладает высокой морфологической пластичностью. Например, по одним данным число конечных сегментов капиллярного листа у *R. kauffmannii* составляет 25-50 (Мовергоз, Бобров, 2016), а по иным выше на порядок, и может достигать 150 (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). *R. trichophyllus* может иметь число конечных сегментов от 15 до 200 (Cook, 1966). Также сложным остаётся вопрос о проведении границы между видами по этим признакам, поскольку значения параметров, с помощью которых отделяют виды друг от друга, вероятно, пересекаются. Примером могут служить два близкородственных и морфологически похожих вида, определение которых вызывает сложность у многих исследователей – *R. trichophyllus* и *R. kauffmannii* (Мовергоз, Бобров, 2016). В частности, долгое время *R. kauffmannii* выделялся только русскоязычными авторами (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Как видно из приведённых значений (Таблица 1), граница их разделения, данная разными авторами, достаточно искусственная. Успешно можно отнести к тому или иному виду только те особи, длина листа которых к границе не приближается. К сожалению, подобным образом перекрываются и значения многих прочих вегетативных параметров.

Таблица 1 – Длины листа двух видов шелковников – *Ranunculus trichophyllus* и *Ranunculus kauffmannii* по разным литературным данным.

Длина листа по литературному источнику (см)		Литературный источник
<i>Ranunculus trichophyllus</i>	<i>Ranunculus kauffmannii</i>	
4-8 (вегетативный побег)	6-12(-16)	(Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017)
2,5-6 (генеративный побег)		

Окончание таблицы 1

2,2-6	6-15,7	(Мовергоз, Бобров, 2016)
3-5	(6)7-10	(Кречетович, 1937)
2-5	5-10	(Черепнин, 1961)

Часто приводящийся в ключах (Беглянова и др., 1979; Тимохина, 1993) качественный признак жёсткости листьев тоже проблематичный, он легко изменяется под действием внешних факторов, ряд видов имеет как мягкие, так и жёсткие листья, а на гербарных образцах признак в принципе использовать невозможно (Cook, 1966). Относительно постоянным и независимым от экологических факторов признаком у видов является характеристика прилистника (Cook, 1966; Pizarro, 1995), однако у ряда видов в зрелом состоянии они опадают, а на гербарном материале определить его форму достаточно проблематично.

Помимо уже упомянутых пloidности и потенциальной возвратной гибридизации, причиной высокой варибельности, конечно, являются и условия среды. Многие виды вполне способны выживать на суше при спаде уровня воды, образуя наземные низкорослые формы, характеризующиеся укороченными и толстыми листьями, с небольшим числом конечных сегментов, а также иными видоспецифичными чертами (Cook, 1966; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017; Лебедева, Лапиров, 2005). Большое влияние на параметры оказывает также глубина произрастания, а также в лотических или лентических водах обитает растение (Мовергоз, Бобров, 2016). Отмечена и значительная взаимосвязь между химическими параметрами и некоторыми характерными признаками вегетативного роста (Garbey, Thiébaud, Muller, 2004). Это связано с тем, что высокая степень фенотипической изменчивости позволяет водным лютикам адаптироваться к неоднородным условиям континентальных вод (Barrett, Eckert, Husband, 1993). Всё это приводит к тому, что многие виды могут образовывать неотличимые друг от друга формы.

Например, подобные космополитному *R. trichophyllus* формы, помимо уже выше названного *R. kauffmannii*, ещё могут образовывать такие виды как *R. kadzusensis*, *R. mongolicus*, *R. nipponicus*, *R. rionii*, *R. subrigidus*, *R. circinatus* (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). С.Д.К. Cook проводил в определённых условиях культивирование растений предполагаемых разных таксонов из различных местообитаний. В результате культивирования некоторые особи одного «таксона» становились неотличимы от особей другого, а иные наоборот, сохраняли свои ключевые признаки независимо от условий культивации (Cook, 1966).

Некоторые виды шелковников имеют гетерофиллию, когда помимо подводного капиллярного листа имеется ещё слаборассечённые надводные (ламинарные листья). Эти листья также имеют свои идентификационные признаки, такие как: размер, форма, число первичных и конечных долей, а также глубина их рассечения. Тем не менее, определение растений по этим признакам может быть затруднено, поскольку их форма часто сильно варьирует даже в пределах одной ценопопуляции (Dahlgren, Svensson, 1994). Кроме того, развитие ламинарного листа не является облигатным, он часто может отсутствовать, особенно в водотоках. Также у гетерофилльных шелковников встречаются «промежуточные» листья, которые представляют собой переход от надводных к подводным. Они бывают разных типов, и как правило привязаны к конкретному таксону. Некоторые промежуточные листья имеют капиллярные конечные сегменты, у других, напротив, капилляры на концах становятся уплощёнными, а у третьих и вовсе структуры расположены весьма хаотично. Часто промежуточные листья возникают у гибридов и растений в неблагоприятных условиях среды (Cook, 1966; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Генетического полиморфизма, связанного с развитием промежуточных листьев, выявлено не было (Butkuvienė et al., 2020). Следует отметить, что гетерофиллия не является признаком, который указывает на родство видов между собой, поскольку представляет собой признак, возникший

у разных линий водных лютиков независимо в ходе конвергентной эволюции (Bobrov и et al., 2015; Cook, 1966).

Генеративные признаки шелковников являются более важными при идентификации растений данной группы, поскольку отличаются малой вариабельностью, и в основном не зависят от условий среды. Однако, к сожалению, они встречаются относительно редко. У погружённых макрофитов вегетативное размножение играет важную роль, в результате чего формируется эволюционная тенденция на дегенерацию генеративной сферы и преобладания вегетативного размножения над семенным (Barrett, Eckert, Husband, 1993; Grace, 1993; Vilas et al., 2017). У ряда видов шелковников это выражается в переходе на самоопыление, о чём свидетельствует уменьшение цветка, числа прямостоячих тычинок и их сближение с рыльцем пестика (Dahlgren, Svensson, 1994), упрощение нектарников и уменьшение выработки ими нектара (Dahlgren, 1992). У многих видов цветение становится не ежегодным, всходы наблюдаются редко и нерегулярно (Cook, 1966; Мовергоз, Бобров, 2016). Особенно сильно генеративная сфера страдает в реофильных условиях, поскольку распространение вегетативных частей с током воды становится ещё более выгодным, а всходы, напротив, легко уничтожаются паводками (Бобров, Мовергоз, 2014).

Наиболее важные для видовой идентификации генеративные признаки: длина цветоножки и её отношение к длине листа, размер и форма лепестков, форма нектарника, форма цветоложа, число тычинок и плодолистиков, размеры и форма плодов. Разумеется, определённая доля вариабельности есть и в этих признаках, так, в неблагоприятных условиях главный побег *R. trichophyllus* может иметь только один цветок на укороченной цветоножке (Лебедева, Лапиров, 2005). По размеру лепестков водные лютики стабильно разделяются на мелкоцветковые и крупноцветковые виды. Форма лепестков, их размер, а также степень соприкосновения при максимальном распускании цветка является относительно стабильным видовым признаком (Cook, 1966; Dahlgren, Svensson, 1994). Одним из самых важных таксономических признаков является

форма находящегося в основании лепестка нектарника. Виды имеют одну из стабильных форм, а гибриды – формы, промежуточные между формами родительских таксонов (Cook, 1966; Dahlgren, 1992). Число тычинок и плодолистиков подвержено уменьшению в условиях стресса (причём число плодолистиков сильнее, чем число тычинок) (Cook, 1966), а между видами наблюдается сильное перекрытие значений (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017), в связи с чем эти признаки имеют невысокое идентификационное значение. Форма плодов и цветоложа специфична для видов (Cook, 1966; Pizarro, 1995), однако без большого опыта разделять виды по ним затруднительно. Особым признаком, важным при определении гибридов, является форма пыльцевого зерна. Стабильные виды и гибриды между близкородственными таксонами с равным числом хромосом демонстрируют фертильные пыльцевые зёрна с правильной шарообразной формой. Гибриды же между генетически отдалёнными таксонами, как правило, имеют пыльцевые зёрна неправильной формы (Cook, 1966; Les, Philbrick, 1993; Мовергоз и др., 2011).

Другим важным признаком водных лютиков является обволоснённость вегетативных и генеративных частей растения. Однако и тут не все таксоны демонстрируют стабильность (Мовергоз и др., 2011). Например, обычно волосистый *R. trichophyllus* в некоторых частях своего ареала имеет абсолютно голые побеги (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017).

1.2. Виды шелковников в Приенисейской Сибири

Макрофиты в Приенисейской Сибири (Красноярский край, республики Хакасия и Тыва; т.е. бассейны Енисея, Чулыма и рек Таймыра в пределах этих регионов) в целом изучены гораздо слабее, чем наземная растительность. Не стали исключением и водяные лютики. В разных литературных источниках, гербарных материалах и базах данных можно найти упоминания разных видов шелковников, суммарно 13 видов. Наибольшее число приводится во «Флоре Сибири» – 7 видов. Большинство указываемых свидетельств и образцов,

впрочем, не относится непосредственно к основному руслу реки. Так или иначе, все эти данные в связи со слабой изученностью этой таксономически сложной группы в регионе требуют критического пересмотра. На территории ряда субъектов (Магаданская область, Камчатский край, республики Тыва и Саха) азиатской России такая ревизия уже была проведена (Бобров, Мочалова, 2013; Бобров, Мочалова, 2014; Бобров, Мочалова, Чемерис, 2014; Иванова и др., 2017), в ходе неё было выяснено, что многие свидетельства о произрастании того или иного вида ошибочны, и связаны с ложной идентификацией местных полиморфных видов. Если проанализировать выше названные 13 видов, то их можно разделить на несколько групп. Ниже представлено описание этих групп, а также морфологии, экологии, распространения и т.п. входящих в них видов. Описание приводятся для водной формы, и является результатом синтеза различных источников (Cook, 1966; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017; Беглянова и др., 1979; Бобров и др., 2015; Бобров, Мовергоз, 2014; Кречетович, 1937; Крылов, 1931; Лебедева, Лапиров, 2005; Мовергоз, Бобров, 2016; Мовергоз, Бобров, 2019; Тимохина, 1993; Цвелёв, Гринталь, 2001; Черепнин, 1961). Известные гибриды и их названия приводятся из (Bobrov et al., 2022; Butkuvienė et al., 2020; Cook, 1966; Koutecký и et al., 2022; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Следует также отметить, что в этом обзоре указываемые виды описываются как представители рода *Ranunculus*, в первоисточниках же их родовым названием может быть *Batrachium*, а биномиальное название, начинающееся на *Ranunculus*, быть записанным в синонимах.

Первая группа – виды, достоверно известные для основного русла среднего Енисея.

1. *Ranunculus trichophyllus* Chaix

Описание: очень полиморфный гомотипный вид. Число хромосом в кариотипе 16, 32, 32+, 40, 48. Вид не выносит быстрого течения. Имеет несколько цитотипов, незначительно отличающихся генетически и морфологически, приуроченных к различным местообитаниям и ареалам,

возможно их стоит рассматривать как самостоятельные виды. Этот комплекс цитотипов *R. trichophyllus*, вероятно, эволюционно молод, он демонстрирует широкий экологический и географический ареал, а также изменчивость морфологии и чисел хромосом.

Распространение: космополитный вид. Имеется множество задокументированных свидетельств о его произрастании на территории исследуемого региона и в водах Енисея (Антипова, 2006; Антипова, 2012; Беглянова и др., 1979; Кречетович, 1937; Луферов, 2007; Попов, 1957; Поспелова, Поспелов, 2007; Приймаченко и др., 1993; Сергиевская, 1976; Тимохина, 1993; Черепнин, 1961; Щербина, 2009; виртуальный гербарий MW (plant.depo.msu.ru); INaturalist (inaturalist.org); GBIF (gbif.org)). Тем не менее, вероятно, многие, если не все, упоминания этого вида для основного русла Енисея связаны с ложной идентификацией реофильного *R. kauffmannii*, или даже его гибрида с неким коротколистным видом, как, например, предполагается для находок *R. trichophyllus* в р. Волга (Bobrov et al., 2022).

Известные гибриды: *R. × lutzii* A. Félix (*R. trichophyllus* × *R. aquatilis*), *R. × segretii* A. Félix (*R. trichophyllus* × *R. baudotii*), *R. × gluckii* A. Félix ex C.D.K. Cook (*R. trichophyllus* × *R. circinatus*), *R. × grovesiana* Druce (*R. trichophyllus* × *R. peltatus*), *R. trichophyllus* × *R. fluitans*, *R. trichophyllus* × *R. mongolicus*, *R. trichophyllus* × *R. schmalhauseni*, *R. trichophyllus* × *R. sphaerospermus*, *R. trichophyllus* × *R. subrigidus*, *R. trichophyllus* × *R. rionii*, *R. trichophyllus* × *R. circinatus* × *R. fluitans*.

2. *Ranunculus kauffmannii* Clerc

Описание: длиннолистный гомофилльный вид. Обитает на быстром течении. Число хромосом в кариотипе 16, 18, 24, 27, 32 (для растений в реке Енисей 24 и 32 (Муратова и др., 2014)). Имеет гибридогенное происхождение, и очень близкородственен *R. trichophyllus*. Долгое время вид выделялся только русскоязычными авторами.

Распространение: евросибирский вид. Хорошо задокументирован как для всей Приенисейской Сибири, так и для самой р. Енисей (Zotina, 2008; Zotina,

2014; Беглянова и др., 1979; Кречетович, 1937; Луферов, 2007; Попов, 1957; Степанов, 2006; Тимохина, 1993; Черепнин, 1961; виртуальные гербарии MW (plant.depo.msu.ru) и KRSU (krsu.sfu-kras.ru); INaturalist (inaturalist.org); GBIF (gbif.org); Plantarium (plantarium.ru)).

Известные гибриды: *R. × absconditus* A. A. Bobrov et Chemeris (*R. circinatus* × *R. kauffmannii*), *R. × algidus* (Капитонова) A.A. Bobrov (*R. kauffmannii* × *R. mongolicus*), *R. kauffmannii* × *R. schmalhauseni*, *R. kauffmannii* × *R. trichophyllus*.

Вторая группа – виды, биномиальные названия которых по современным данным признаны невалидными.

3. *Ranunculus foeniculaceus* Gilib.

Описание: название может относиться к практически любому коротколистному гоμόфильному виду из секции. Для данного биномиального названия как синоним обычно приводится *R. circinatus* (см. ниже). Отмечается более нежное строение сибирских растений этого вида по сравнению с европейскими.

Распространение: приводится как вид для исследуемого региона в (Беглянова и др., 1979; Кречетович, 1937; Попов, 1957; Черепнин, 1961).

4. *Ranunculus eradicator* (Laest.) Johanss.

Описание: для данного биномиального названия как синоним обычно приводится *R. confervoides*, их описание, однако, некритично отличается. Отмечается, что восточносибирские растения этого вида крупнее европейских как в вегетативных, так и в генеративных частях.

Распространение: приводится как вид для исследуемого региона в (Андреева, Тупицына, 2014; Антипова, 2006; Антипова, 2012; Беглянова и др., 1979; Кречетович, 1937; Луферов, 2007; Попов, 1957; Поспелова, Поспелов, 2007; Тимохина, 1993; Черепнин, 1961; Щербина, 2009; виртуальные гербарии MW (plant.depo.msu.ru) и NSK (herb.csbg.nsc.ru)).

5. *Ranunculus divaricator* Schrank

Описание: иногда принимается за подводную форму *R. aquatilis*. В некоторых источниках это название используется как синоним *R. circinatus*. Сейчас считается синонимом *R. trichophyllus*. Тем не менее в источниках часто упоминается вместе с ними как разные виды. От *R. trichophyllus* и *R. circinatus* в такой трактовке *R. divaricatus* отличается длинным черешком и меньшим размером лепестков.

Распространение: приводится как вид для исследуемого региона в (Беглянова и др., 1979; Кречетович, 1937; Попов, 1957; Сергиевская, 1976; Тимохина, 1993; Черепнин, 1961; Шауло, 1998).

Третья группа – виды, по современным данным с ареалом вне Восточной Сибири.

6. *Ranunculus aquatilis* L.

Описание: гетерофилльный вид. Предпочитает лентические воды. Число хромосом в кариотипе 16, 32, 40, 48, 48+.

Распространение: европейский вид. Упоминается для Приенисейской Сибири в (Луферов, 2007; Пospelова, Пospelов, 2007; Тимохина, 1993; виртуальный гербарий MW (plant.depo.msu.ru); INaturalist (inaturalist.org); GBIF (gbif.org)). По всей видимости эти упоминания связаны с неверной идентификацией другого гетерофилльного вида – *R. mongolicus*.

Известные гибриды: *R. × lambertii* A. Félix (*R. aquatilis* × *R. baudotii*), *R. × virzionensis* A. Félix (*R. aquatilis* × *R. peltatus*), *R. × lutzii* A. Félix (*R. aquatilis* × *R. trichophyllus*), *R. aquatilis* × *R. fluitans*, *R. aquatilis* × *R. schmalhauseni*, *R. aquatilis* × *R. tripartitus*, *R. aquatilis* × *R. circinatus*, *R. aquatilis* × *R. circinatus* × *R. fluitans*.

7. *Ranunculus peltatus* Schrank

Описание: очень полиморфный гетерофилльный вид. Предпочитает лентические воды. Число хромосом в кариотипе 16, 28, 30, 32, 32+, 34, 48.

Распространение: европейский вид. Упоминается для Приенисейской Сибири в (Антипова, 2006; Антипова, 2012; Тимохина, 1993; GBIF (gbif.org)).

По всей видимости эти упоминания связаны с неверной идентификацией другого гетерофилльного вида – *R. mongolicus*.

Известные гибриды: *R. × virzionensis* A. Félix (*R. aquatilis × R. peltatus*), *R. × kelchoensis* S.D. Webster (*R. peltatus × R. fluitans*), *R. × grovesianum* Druce (*R. peltatus × R. trichophyllus*), *R. peltatus × R. penicillatus*

8. *Ranunculus rionii* Lager

Описание: коротколистный гомофилльный вид. Предпочитает неглубокие воды. Число хромосом в кариотипе 16.

Распространение: распространён в Европе и Западной Сибири. В виртуальном гербарии MW (plant.depo.msu.ru) имеется единичный образец этого вида из республики Тывы. По всей видимости, это неверно идентифицированный *R. subrigidus*.

Известные гибриды: *R. rionii × R. circinatus*, *R. rionii × R. trichophyllus*.

9. *Ranunculus circinatus* Sibth.

Описание: коротколистный гомофилльный вид. Предпочитает глубокие воды. Число хромосом в кариотипе 16.

Распространение: европейско-Западноазиатский вид. Упоминается для Приенисейской Сибири в (Антипова, 2006; Антипова, 2012; Степанов, 2006; Тимохина, 1993; GBIF (gbif.org)). Также упоминается как *R. foeniculaceus* (см. выше). Следует отметить, что для Сибири описывается распространение формы, отличной от европейской. По всей видимости, эти упоминания связаны с неверной идентификацией другого, относительно недавно ставшего известным для Сибири вида – *R. subrigidus*, или коротколистной формы *R. trichophyllus*.

Известные гибриды: *R. × gluckii* A. Félix ex C.D.K. Cook (*R. trichophyllus × R. circinatus*), *R. × redundans* A. A. Bobrov, Butkuvienė et Sinkevičienė (*R. circinatus × R. fluitans*), *R. circinatus × R. penicillatus*, *R. circinatus × R. fluitans × R. trichophyllus*, *R. circinatus × R. kauffmannii*, *R. circinatus × R. rionii*, *R. circinatus × R. aquatilis*, *R. circinatus × R. aquatilis × R. fluitans*.

10. *Ranunculus confervoides* (Fries) Fries

Описание: коротколистный гомофилльный вид. Число хромосом в кариотипе 16, 24, 32.

Распространение: европейский вид. Небольшое количество находок упоминается для Приенисейской Сибири в базах данных INaturalist (inaturalist.org) и GBIF (gbif.org). Также упоминается как *R. eradicator* (см. выше). По всей видимости, эти упоминания связаны с неверной идентификацией другого, относительно недавно ставшего известным для Сибири вида – *R. subrigidus*, или коротколистной формы *R. trichophyllus*.

Известные гибриды: *R. confervoides* × *R. schmalhauseni*

11. *Ranunculus longirostris* Godr.

Описание: коротколистный гомофилльный вид. Число хромосом в кариотипе 16.

Распространение: североамериканский вид. Небольшое количество находок упоминается для Таймыра в базах данных INaturalist (inaturalist.org) и GBIF (gbif.org). Однако эти упоминания связаны с особенностями системы данных в этих ресурсах. Дело в том, что номенклатура в них даётся по Catalogue of Life (catalogueoflife.org), в котором относительно недавно ставший известным для Сибири вид, *R. subrigidus*, является синонимом для *R. longirostris*. Однако мы признаём оба этих вида самостоятельными, поскольку между ними имеется ряд важных отличий в генеративной сфере, а генетические данные свидетельствуют об уникальном положении *R. longirostris* в секции.

Четвёртая группа – виды, для основного русла среднего Енисей не зарегистрированные, но ожидаемые.

12. *Ranunculus mongolicus* (Krylov) Serg.

Описание: гетерофилльный вид. Ещё сравнительно слабо изучен. Число хромосом в кариотипе 32.

Распространение: азиато-североамериканский вид. Для исследуемого региона известен достаточно давно, и упоминается в (Артемов, 2014; Кречетович, 1937; Луферов, 2007; Попов, 1957; Сергиевская, 1976; Тимохина, 1993; Черепнин, 1961; Шауло, 1998; INaturalist (inaturalist.org); GBIF (gbif.org)).

Однако ни для бассейна среднего Енисея, ни для основного русла ниже Красноярской ГЭС вид не упоминается. При этом имеются находки из республики Тывы и бассейнов рек полуострова Таймыр, что указывает на высокую вероятность произрастания данного вида и в бассейне среднего течения.

Известные гибриды: *R. × algidus* (Kapitonova) A.A. Bobrov (*R. mongolicus* × *R. kauffmannii*), *R. mongolicus* × *R. trichophyllus*.

13. *Ranunculus subrigidus* Drew

Описание: коротколистный гомофилльный вид. Число хромосом в кариотипе 16.

Распространение: азиатско-американский вид. Относительно недавно стал известен для Сибири (Бобров, Мочалова, 2014; Киприянова, 2018; Киприянова, Романов, 2021). В исследуемом регионе упоминается для Республики Тыва (Иванова и др., 2017), имеется одна находка в пруду г. Абакана на ресурсе INaturalist ([inaturalist.org/observations/126473940](https://www.inaturalist.org/observations/126473940)), отмечено произрастание в Минусинской котловине на юге Красноярского края (Ефимова, Толмачев, Ефимов, 2022), несколько находок упоминается для бассейнов рек Таймыра (byrranga.ru), в том числе как *R. longirostris* (см. выше). Ни для бассейна среднего Енисея, ни для основного русла реки на всём её протяжении вид не упоминается, здесь он мог быть ложно идентифицирован как *R. circinatus* (*R. foeniculaceus*), *R. confervoides* (*R. eradicatus*) или коротколистная форма *R. trichophyllus* (*R. divaricatus*) (см. выше).

Известные гибриды: *R. subrigidus* × *R. trichophyllus*.

Также следует отметить что для вышеназванных видов в Приенисейской Сибири не отмечено ни одного гибрида, хотя, как видно из описаний, их существование возможно. Более того, в Европе они встречаются достаточно часто, демонстрируя широкое распространение именно в речных экосистемах (Gebler et al., 2022; Zalewska-Gałosz, Jopek, Ilnicki, 2014; Мовергоз и др., 2011). Например, гибриды составляют около 73% от изученных особей в Литве, 36% в

Центральной России (Bobrov et al., 2022), и не менее 15% в Центральной Европе (Koutecký et al., 2022; Prančl et al., 2018).

1.3. Морфометрическое и генетическое изучение шелковников

Ситуация, когда сложность в трактовке и идентификации видов шелковников вызывает противоречия в выделяемых для региона таксонах, не является уникальной для Приенисейской Сибири. В мировой литературе накоплены сведения о том, как в таких ситуациях исследователи проводили морфологическое сравнение тех или иных частей растений, применяли морфометрические и молекулярные методы, а также сопоставляли их результаты.

Подобная ситуация сложилась, например, в Японии. В ходе ревизии шелковников (Wiegleb, 1988) был проанализирован гербарный материал и ряд вегетативных и генеративных признаков, критически пересмотрена номенклатура в японской литературе начиная с 1861 года. В результате таксономических изысканий тогда для Японии было выделено 4 вида (один из них, *R. ashibetsuensis*, был описан впервые), описаны их вариации и морфологическая изменчивость. Позднее были проведены и генетические исследования шелковников Японских островов. Было отмечено высокое генетическое разнообразие имеющего 4 вариации *R. nipponicus* на межпопуляционном уровне и низкое на внутривидовом. В тоже время внутри ценопопуляций наблюдалось возрастание генетического разнообразия по направлению от верховий к низовьям рек. Предполагается, что генеалогия не согласуется с внутривидовой таксономией *R. nipponicus* (Koga, Kadono, Setoguchi, 2007). Позже было обнаружено 8 гаплотипов японских шелковников, и они также не соответствовали выделяемым видам и вариациям (кроме *R. kadzusensis*), а разделялись на южную и северную группы. Получается, что классификация 1988 года должна быть тщательно пересмотрена на основе внутри- и межпопуляционного анализа морфологической пластичности,

репродуктивной изоляции, и генетических данных (Koga, Kadono, Setoguchi, 2008). Нами такой работы обнаружено не было, однако следует отметить, что в публикации (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017) упоминаемый (Koga, Kadono, Setoguchi, 2008; Wiegleb, 1988) для Японии вид *R. yezoensis* уже обозначен как синоним для *R. nipponicus*.

Существует ряд работ по морфологическому исследованию водяных лютиков островов Эгейского моря. Была подробно изучена форма нектарников и её вариации, установлено, что она является более значимым таксономическим признаком по сравнению с большинством других, а также может быть использована для выявления гибридов (Dahlgren, 1992). Многомерные анализы (анализ канонических вариаций (CVA) и кластеризация с расстоянием Махаланобиса) греческих шелковников были использованы, чтобы показать, как изменчивость листьев и лепестков распределялась внутри ценопопуляций и между ними. Данные о параметрах ламинарных листьев и лепестках были проанализированы авторами отдельно для таксонов, уровней плоидности и островов. Результаты не показали никакой четкой структуры и не указывают на то, что ценопопуляции как-либо кластеризуются, а значит нет никаких оснований к их разделению на таксоны, основываясь на признаках ламинарных листьев или лепестков. Тем не менее, авторами наблюдалась небольшая тенденция к отделению гексаплоидов и пентаплоидов от тетраплоидов с использованием данных о ламинарных листьях (Dahlgren, Svensson, 1994). Следующее исследование включало уже около 40 признаков, как качественных, так и количественных. Данные были подвергнуты анализу методом главных компонент (PCA) для выяснения многомерных взаимосвязей между популяциями и таксонами. В результате некоторые виды также частично перекрылись (Dahlgren, 1995).

В работе с материалом шелковников из южной Швеции (De-yuan, 1991) было проведено всестороннее морфологическое исследование вариаций, включавшее биометрический и кариологический анализ, а также эксперименты по скрещиванию. В результате также была выявлена высокая изменчивость

вегетативных и генеративных признаков, а ценными для диагностики видов в исследуемом регионе были признаны только формы прилистников и нектарников. Также автор исследования считает гетерофилльный *R. aquatilis* и гомофилльный *R. trichophyllus* конспецифичными, поскольку все признаки, используемые для различения этих двух видов, изменчивы и легко модифицируются, вплоть до полного перекрытия, полученные гибриды между ними полностью фертильны, а размер кариотипов совпадает (гексаплоиден). Таким образом, на исследуемой территории *R. trichophyllus* оказался морфологически не отличим от мелкоцветковых форм *R. aquatilis* без ламинарных листьев. Более поздние исследования показали и подобность некоторых генотипов *R. trichophyllus* в этом регионе генотипам *R. aquatilis* (Koutecký et al., 2022). Тем не менее, по современным концепциям это всё же два разных вида (Koutecký et al., 2022; Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). В других частях своего ареала *R. trichophyllus* преимущественно тетраплоиден, и репродуктивно изолирован от *R. aquatilis*, поскольку возникающий пентаплоидный гибрид стерилен. Также целостность комплекса *R. trichophyllus*, несмотря на молекулярную вариабельность, поддерживается отсутствием каких-либо значимых морфологических различий или географического разделения между растениями, похожими и непохожими на *R. aquatilis* (Koutecký et al., 2022). Предполагается, что именно обратная гибридизация между этими видами, которые представлены на территории Северной Европы гексаплоидами, стирает границы между ними (Prančl и et al., 2018).

В ревизии шелковников о. Корсика (Jeanmonod, Naciri, 2021) у 113 исследованных особей было измерено и проанализировано 16 морфологических признаков (10 из них позже использовались в статистическом анализе), обычно или иногда рассматриваемых для идентификации видов. Были исключены образцы наземной формы и образцы без генеративных признаков. В ходе ревизии для флоры Корсики было установлено достоверное наличие только 3 таксонов из 14 ранее указываемых для острова. Авторы отмечают ценность статистического анализа для проверки значимости морфологических

признаков в классификации шелковников. Так, 9 из 10 параметров оказались значимыми, однако они демонстрируют такую вариабельность, что крайности одного таксона часто совпадают с крайностями двух других, что говорит о необходимости учитывать сразу все параметры растения.

Интересны исследования видового состава шелковников в Южной Америке. А. Lumbregas с соавторами, чтобы положить конец давним спорам о таксономии шелковников в регионе, изучили морфологические, экологические, и молекулярные особенности водяных лютиков, в результате были идентифицированы два вида: *R. aquatilis* и *R. trichophyllus*, а также выдвинуто предположение, что эти европейские таксоны были интродуцированы, а в дальнейшем осуществили экспансию благодаря вегетативному размножению (Lumbregas et al., 2014). Однако в вышеназванной работе имеет место быть сомнительный выбор генетических образцов для филогенетического анализа (Wiegleb, Desfayes, Bobrov, 2022). Позже было замечено, что южноамериканские гетерофильные шелковники явно по морфологии отличаются от европейского *R. aquatilis* (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). В связи с чем было проведено новое исследование (Wiegleb, Desfayes, Bobrov, 2022) с использованием точно верифицированных образцов множества видов шелковников из разных регионов планеты. В результате для Южной Америки было выявлено два других, не европейских вида: *R. subrigidus* и *R. oblitus* (был описан впервые).

Достаточно большой и качественный материал по морфологии шелковников накоплен для бассейна Волги (Лебедева, Лапиров, 2005; Лебедева, Лапиров, 2009; Мовергоз и др., 2011; Мовергоз, Бобров, 2016), проведено межвидовое сравнение морфологии, в том числе с использованием модульного подхода. Однако, к сожалению, хорошей статистической обработки или сопоставления этих материалов с молекулярными данными не опубликовано. Более того, значительная часть образцов из рек, где совместно произрастают *R. circinatus* и *R. kauffmannii*, идентифицированных как *R.*

trichophyllus в этих работах и гербарной коллекции IBIW, на самом деле могут быть гибридами *R. circinatus* × *R. kauffmannii* (Bobrov et al., 2022).

Отдельно стоит отметить применение молекулярно-генетических методов в идентификации гибридов. В группе, для которой характерна частая гибридизация и морфологическая изменчивость, эти методы могут быть единственным достоверным средством для подтверждения гибридной природы образцов (Telford et al., 2011). Результаты их использования совместно с классическими морфологическими, экологическими и кариологическими подходами по-настоящему впечатляют. Обнаружены гибриды *R. fluitans* × *R. peltatus* (Zalewska-Gałosz, Jopek, Ilnicki, 2014), *R. circinatus* × *R. fluitans* (Gebler et al., 2022), необычный стерильный гибрид *R. circinatus* × *R. penicillatus* (Butkuvienė et al., 2020). Было зарегистрировано несколько новых гибридов шелковников и их широкое распространение во флоре Восточной Европы, в том числе раннее не известных (*R. circinatus* × *R. fluitans* и *R. circinatus* × *R. kauffmannii*) (Bobrov et al., 2022). В Центральной Европе были обнаружены предполагаемые гибриды из семи различных родительских комбинаций, в том числе *R. rionii* × *R. circinatus* и *R. rionii* × *R. trichophyllus*, ставшие первыми известными гибридами для *R. rionii* (Koutecký et al., 2022). Также филогенетический анализ *R. schmalhauseni*, позволил установить унаследование им хлоропластной ДНК от двух видов из разных генетических групп (впрочем, что это за виды, авторам установить не удалось), что указывает на то, что это вид гибридогенного происхождения, который произошел от гибридов, стабилизированных полиплоидизацией (Bobrov et al., 2015).

Выше описанными исследованиями не исчерпываются попытки ревизии и изучения разнообразия водяных лютиков на тех или иных территориях современными методами сравнительной морфологии, морфометрии, кариологии и генетики. Существуют также, например, работы, посвященные Ирану (Akbari, Pakravan, Naqinejad, 2017), Иберии (Fernández, Diosdado, Pastor, 1997), Цинхай-Тибетскому нагорью (Chen et al., 2014). Все они сходятся в одном: ни один отдельно взятый метод не способен достоверно выделить виды

из огромного разнообразия шелковок. По всей видимости, справедлива точка зрения, что воздействие внешних факторов оказывает на морфологию большее влияние, чем генотип (Cook, 1966). К подобным выводам пришли и А.А. Бобров с соавторами (Bobrov et al., 2015), они обнаружили высокое генетическое разнообразие у *R. trichophyllus*, независимость эволюции гетерофиллии в секции, несоответствие между генетическим родством и морфологическим сходством. Также следует отметить тот факт, что центры видового разнообразия группы находятся в двух достаточно удалённых друг от друга, но хорошо изученных регионах – Европе и Восточной Азии. В тоже время при составлении видовых списков в, например, Сибири и Америке местные шелковок долгое время были обозначены наиболее похожими на них европейскими таксонами. Весьма вероятно, что мировое разнообразие этой группы ещё в значительной мере недооценено. Необходима комплексная ревизия видов секции во всех регионах Земли.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1. Район и материалы исследования.

Районом исследования являлось основное русло реки Енисей на участке от Красноярской ГЭС до устья р. Ангара. На этом участке к реке с правой стороны подходят отроги Енисейского кряжа, и далее река вплоть до конца участка течёт у подножий этого кряжа. С левой стороны простирается холмистая лесная, частично заболоченная местность. Таким образом, наблюдается значительная асимметрия берегов. Долина реки имеет ширину около 10-11 км. Река часто преодолевает низкие отроги кряжа, среди которых наиболее значимым является Казачинский. Самые крупные притоки на этом участке: р. Мана и р. Кан, однако значительного влияния на гидрологические параметры они не оказывают. Климат в средней части Енисея резко континентальный, при этом ледовый режим значительно изменён влиянием Красноярской ГЭС. В обычные зимы река не замерзает вплоть до с. Казачинское (302 км от ГЭС), а в суровые до с. Атаманово (124 км от ГЭС). Скорость течения на плёсовых участках составляет 5-6 км/ч, а на перекатах может достигать 10 км/ч. Уровень воды и скорость течения в значительной мере зависят от режима работы Красноярской ГЭС. Грунт в реке преимущественно галечный (Верстакова, 2008; Муранов, 1973). Ключевыми факторами, определяющими рост макрофитов в среднем Енисее, являются задаваемые Красноярской ГЭС глубина, скорость течения и температурный режим, а после паводков, вызываемых массивным сбросом воды, возможна смена сообществ. Сами же растения произрастают в основном вблизи островов, в протоках, заводях, старицах и по берегам основного русла (Zotina, 2014).

Материалами для работы послужили полевые сборы автора и сотрудников Института Биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, сделанные в ходе выполнения гидробиологических работ на Енисее с июля по ноябрь 2022 года, а также гербарные листы 2008-2021 годов сбора. Суммарно имеются образцы из

16 точек отбора в среднем течении (рис. 1), а также из одной точки в нижнем течении (о. Вампеев, близ п. Ворогово). Всего было проанализировано 93 гербарных листа. Карты строились в программе DIVA-GIS (Hijmans et al., 2004).



Рисунок 1 – Карта точек регистрации шелковок в среднем течении р. Енисей

1.2. Анализ морфологических признаков

В обзоре литературы были рассмотрены сложности таксономии шелковок, и то, как они накладывались на изучение группы в Приенисейской Сибири. Показаны сильные различия в количестве таксонов и их трактовке. Удовлетворительная ревизия водяных лютиков может быть проведена только при наличии как минимум морфологического и статистического анализа.

Анализируются качественные и количественные признаки образцов, на каждом этапе производилась их фотофиксация. Из качественных признаков были изучены форма нектарников и плодов, наличие и характер гетерофиллии.

Количественные признаки, такие как: длина междоузлий, длина черешка, длина листовой пластинки, длина листа, расстояние между первым и вторым рассечением листа, длина конечного сегмента листа, длина цветоножек, лепестков и плодов измерялись с помощью программы ImageJ. Важные таксономические параметры соотношения длины листа к длине соседнего междоузлия и цветоножки рассчитывался математически. В прочих исследованиях, в которых фигурирует признак обволоснённости частей побега (Cook, 1966; Pizarro, 1995; Мовергоз, Бобров, 2016) волоски количественно не оценивались, мы попытались оценить эти признаки количественно впервые. Под бинокулярным микроскопом на междоузлиях, узлах (в том числе на прилистниках, если они есть), листьях, цветоножках и плодах считались волоски в круге, диаметр которого составлял 0,3 см. Для сглаживания индивидуальной изменчивости на каждом образце проводилось несколько измерений каждого количественного параметра, вплоть до 10, если столько измерений было возможно провести, а затем из них высчитывалось среднее.

Из упоминаемых в литературе вегетативных признаков, важных для идентификации, просматривались, но количественно не измерялись и не использовались в статистическом анализе несколько признаков. Длина побега в связи с её сильной зависимостью от глубины произрастания. Соотношение средней части листа с боковыми в связи с низким идентификационным значением для известных сибирских видов. Число конечных сегментов листа в связи с сильной вариабельностью и сложностью его установления по гербарному материалу.

Признак гетерофилльности был полуколичественным, и имел три уровня: нет ламинарного листа, есть промежуточный лист, есть полноценный ламинарный лист. Параметры ламинарных и промежуточных листьев просматривались, но были исключены из статистического анализа, поскольку они, во-первых, сильно вариабельны, во-вторых, гетерофиллия наблюдалась только у 9 анализируемых образцов.

Поскольку половина образцов не имела признаков генеративной сферы, а имевшие находились на разных стадиях их проявления (цветение, отцветание, плодоношение), эти признаки были исключены из статистического анализа, и рассматривались вне его. В связи с тем, что неправильная форма пыльцы может свидетельствовать о гибридизации (Les, Philbrick, 1993; Мовергоз и др., 2011), была рассмотрена пыльца у нескольких образцов из тех, у которых она сохранилась. Поскольку пыльцы было мало, на предметное стекло помешался сразу пыльник, с него стряхивалось столько пыльцы, сколько возможно, а потом всё находившееся на предметном стекле подкрашивалось раствором йода и просматривалось в микроскоп.

В ряде методов многомерной статистики ни один признак не должен быть линейной комбинацией любого другого признака, поэтому длина листа (равная сумме длины черешка и длины листовой пластинки) и соотношения длин были исключены из статистического анализа.

В результате в морфометрическом анализе учувствовали такие параметры как: длина междоузлия (IN), длина черешка (PT), длина листа после первого рассечения (PL), число волосков на стебле (HIN), число волосков на узле (HND), число волосков на основании листа (HPL), характер листьев (LAM), длина конечного сегмента (TS), расстояние между первым и вторым рассечением листа (OT).

По полученным данным была предварительно проведена видовая идентификация образцов с помощью наиболее современной обзорной статьи по секции (Wiegleb, Bobrov, Zalewska-Gałosz, 2017). Образцы, имевшие промежуточные признаки (например, слишком длинный для *R. trichophyllus* черешок, но слишком короткий лист для *R. kauffmannii*) были предварительно обозначены как гибриды соответствующих видов.

Статистический анализ данных и построение графиков осуществлялось с помощью языка программирования R (R. Core Team, 2013). Помимо встроенных функций, использовались также функции из пакетов `readxl` (Wickham, Bryan, 2019) и `MorphoTools2` (Šlenker, Koutecký, Marhold, 2022).

Суммарно в статистическом анализе участвовало 9 параметров, в качестве оперативных таксономических единиц (OTU) первично было выделено 9 «таксонов» и 39 «ценопопуляций», включающих в себя 208 образцов (Приложение А).

Для статистического анализа использовались классические, широко применяемые морфометрические методы (Koutecký, 2007; Marhold, 2011). Описательная статистика восьми используемых в морфометрическом анализе количественных параметров была вычислена, она использовалась для оценки вариабельности. Перед проведением многомерных анализов была проведена проверка на нормальность распределения значений каждого параметра внутри каждого «таксона» посредством теста Шапиро-Уилка, это необходимо для верного выбора статистических тестов в дальнейшем. Затем параметры были проверены на взаимную корреляцию тестом ранговой корреляции Спирмена, поскольку он позволяет изучить взаимосвязь между признаками, а сильно коррелированные параметры не применимы в ряде многомерных методах анализа. Основные статистические показатели были вычислены для каждого «таксона».

Одним из методов, не требующим распределения принадлежности выборки к группам (таксонам) является иерархическая кластеризация. Этот метод позволяет получить представление о существовании групповой (иерархической) структуры в данных. Несмотря на то, что при проведении кластерного анализа можно использовать отдельные образцы, при их большом количестве полученная дендрограмма с трудом поддаётся осмыслению, поэтому рекомендуется в качестве OTU использовать «ценопопуляции». Важно помнить, что не существует универсального метода, который был бы наилучшим в любой ситуации, в связи с чем рационально использовать более одного метода кластеризации и осуществлять поиск подобных кластеров в построенных разными алгоритмами дендрограммах. Для морфометрического анализа чаще всего используются UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Sokal, Mitchener, 1958) и метод Уорда (Ward, 1963) с

применением евклидова расстояния в качестве меры различия. UPGMA основан на определении расстояния между двумя кластерами как среднего значения расстояний (то есть сходства) между всеми парами объектов, которые составляют по одному объекту из каждого кластера. Метод Уорда базируется на объединении тех объектов, сумма квадратов отклонений от общего центроида которых минимальна. По сравнению с другими методами, он позволяет создавать наиболее компактные кластеры. Перед проведением кластерных анализов данные были стандартизированы до нулевого среднего значения и единичного стандартного отклонения.

Другим методом, позволяющим оценить имеющиеся данные без строгого предварительного распределения образцов по группам (таксонам) является метод главных компонент (РСА). РСА преобразует измеренные переменные в искусственные переменные (основные компоненты). Первые несколько из них извлекают большую часть дисперсии измеряемых переменных. Хотя анализ и был разработан для количественных параметров с нормальным распределением, он может использоваться для качественных (двоично зашифрованных) и полуколичественных символов, а также в значительной мере устойчив при отклонении распределения параметров от нормального. Единственное строгое ограничение РСА заключается в количестве анализируемых признаков (их не должно быть больше чем образцов) (Marhold, 2011). Проводимый нами РСА основывался на стандартизированной корреляционной матрице.

Дискриминантный анализ является набором из статистических методов, призванных проверять гипотезы о связи параметров с группами. Канонический дискриминантный анализ находит линейные комбинации исходных переменных, которые обеспечивают максимальное разделение между предварительно определенными группами. Классификационный дискриминантный анализ проводится для классификации наблюдений (выборочный набор данных) по известным группам, используя критерии (дискриминантные функции), основанные на других наблюдениях с известной

принадлежностью к группе (обучающий набор данных) (Marhold, 2011). Мы проводили классификационный дискриминантный анализ с использованием образцов в качестве OTU. Поскольку некоторые признаки отклонялись от нормального распределения, в дискриминантном анализе вместо параметрических методов (линейного (LDA) и квадратичного (QDA) дискриминантных анализов) использовался метод k – ближайших соседей (K nearest neighbour CDA). Также у нас нет двух независимых наборов данных (обучающего и выборочного), в связи с чем была применена процедура перекрестной проверки, в ходе которой часть набора данных используется для вычисления критериев, которые применяются к оставшимся наблюдениям, и алгоритм повторяется до тех пор, пока все образцы не будут классифицированы. Далее происходит сравнение полученной таким образом классификации с предварительной. Результаты анализа представлены в виде классификационной таблицы с указанием доли (%) правильно классифицированных индивидов в каждой группе.

В результате проведенных многомерных анализов предварительная классификация пересматривалась, выделялись группы, соответствующие полученным группировкам. Пересмотренная классификация также подвергалась проверке с помощью CDA.

1.3. Филогенетический анализ

Для проведения филогенетического анализа было выбрано восемь морфологически различающихся образцов енисейских шелковок. Также было взято два образца из Телецкого озера (Республика Алтай), поскольку нам нужны были верифицированные образцы видов из Сибири, наличие которых в нашем материале вызывает сомнения. Каждый образец брался в двух повторностях, а для образца №10 повторностями являлись морфологически идентичные растения с одного места сбора, но разных годов сбора.

Анализ проводился по ядерно-рибосомальному ITS региону, поскольку именно он обладает наибольшей способностью к диагностике видов и гибридов шелковок (Telford et al., 2011).

ДНК выделялась из гербаризированных растений посредством СТАВ метода (Doyle, Doyle, 1987). Сухие листья помещались в стерильные пробирки Эппендорф на 1,5 мл и перетирались до состояния пыли. Материал заливался 1000 мкл 2% раствора СТАВ-буфера и встряхивался. Далее осуществлялось термостатирование при 65 °С в течении 2,5 часов. Затем пробирки центрифугировались в течении 20 минут при 20 °С и 1300 оборотов в минуту. Далее отбиралось около 700 мкл получившегося супернатанта в чистые пробирки, добавлялось столько же хлороформа, и центрифугировалось при тех же настройках что и раньше, но в течении 15 минут. Отбор супернатанта и последующие действия были повторены ещё раз. Затем отбиралось 500 мкл супернатанта, к ним добавлялось столько же изопропанола, полученные смеси выдерживались в холодильнике (10 °С) в течении 40 минут, а затем центрифугировались в течении 20 минут при 4 °С и 1300 оборотов в минуту. После чего жидкость из пробирок сливалась, а к осадку добавляли 700 мкл 80%-го раствора C_2H_5OH . Раннее описанное центрифугирование и все последующие действия повторялись ещё раз. Спирт сливается, а пробирки остаются открытыми для просушивания на 1 час. ДНК считается выделенной. Растворяем ДНК в деионизированной воде, полученный раствор готов для дальнейшей полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В новых пробирках смешивается раствор ДНК (2 мкл), готовая смесь для ПЦР производства ООО «Биолабмикс» (10 мкл), вода (6 мкл), прямой и обратный праймеры для амплификации ITS региона (каждый по 1 мкл). Полученные смеси помещаются в амплификатор C1000 Thermal Cycler Bio Rad, и в течении 1,5 часов проводится ПЦР.

Для оценки качества полученной ДНК проводится разделение продуктов амплификации на агарозном геле (200 мл воды + 1,65 г агарозы + капля бромида этидия) в горизонтальной электрофорезной камере. После того как

электрофорез показал хорошее качество полученной ДНК, растворы отчищались от примесей с помощью магнитных частиц и отправлялись на секвенирование методом Сэнгера на секвенаторе ABI 3130 в г. Новосибирск.

Нуклеотидные последовательности для сравнения с нашими данными брались из GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). При выборе образцов для сравнения необходимо учесть два фактора. Во-первых, из-за таксономической сложности исследуемой группы многие образцы могут быть неверно идентифицированы, стоит обращать внимание на место их сбора и прочие данные. Например, регистрационный номер HQ338300 обозначен как *R. aquatilis*, однако он был собран в Северной Америке, где, как известно, европейский *R. aquatilis* не встречается (Wiegleb, Desfayes, Bobrov, 2022). Во-вторых, для анализа необходимо подбирать только те виды, которые морфологически радикально не отличаются от исследуемых образцов, или имеют подходящий ареал. Для филогенетического анализа из GenBank (ncbi.nlm.nih.gov) нами было выбрано 14 представителей секции *Batrachium*, в качестве аутгруппы использовался не входящий в секцию шелковников *Ranunculus gmelinii*. Для каждого вида, если это было возможно, бралось две нуклеотидных последовательности.

Выравнивание последовательностей производилось в программе MEGA (Kumar et al., 2018). Использовался алгоритм MUSCLE и метод кластеризации UPGMA. После выравнивания для получения более чистых данных у последовательностей удалялись «рваные» начала и концы. Построение финального древа и его визуализация осуществлялась со следующими параметрами: метод – ML, бутстрэп – 1000, эвристика для поиска топологий – SPR, информационный критерий – BIC, метод построения первичного древа – NJ.

Изъято 26 страниц

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе ревизии водных лютиков (*Ranunculus*) секции шелковников (*Batrachium*) в среднем течении р. Енисей достоверно обнаружено существование и широкое распространение только двух видов: *Ranunculus subrigidus* (указывается впервые) и *Ranunculus kauffmanii*.
2. Множество образцов шелковников имели промежуточные морфологические признаки между *Ranunculus subrigidus* и *Ranunculus kauffmanii*, а у некоторых имелись ламинарные листья, как у встречающегося на юге и севере Красноярского края *Ranunculus mongolicus*. Их таксономическое положение до конца не ясно.
3. Исследуемые вегетативные признаки оказались очень вариабельными. В условиях лотических вод крупной реки значения многих параметров у образцов достоверно определённых видов вышли за максимальные значения, описанные в литературе. Высокой значимостью для идентификации енисейских шелковников является наличие гетерофиллии, форма нектарников и обволоснённости стебля.
4. Филогенетический анализ, проведённый с использованием ITS маркера, разделил исследуемые образцы на две крупные, достоверно существующие клады, но не позволил установить эволюционные взаимоотношения между видами внутри клад.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева Е. Б., Тупицына Н. Н. Флора заповедника «Столбы» // 2014. С. 304.
2. Антипова Е. М. Настоящая водная растительность северных лесостепей средней Сибири // Вестник Красноярского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева. 2006. С. 5–14.
3. Антипова Е. М. Флора внутриконтинентальных островных лесостепей Средней Сибири: монография / Е. М. Антипова // 2012. С. 662.
4. Артемов И. А. Конспект флоры горного массива Монгун-Тайга (Юго-Западная Тува) // Растительный мир Азиатской России. 2014. Т. 2. № 14. С. 41–55.
5. Беглянова М. И., Васильева Е. М., Кашина Л. И. Кольцова В. Г., Коропачинский И. Ю., Красноборов И. М., Некошнова Т. К., Смирнова В. А., Черепнин В. Л., Юдина Е. М. Определитель растений юга Красноярского края. Новосибирск: Наука, 1979. 672 с.
6. Бобров А. А., Эрст А. С., Анькова Т. В., Мовергоз Е. А. Числа хромосом водяных лютиков (*Ranunculus* секция *Batrachium*, Ranunculaceae) флоры России // Ботанический Журнал. 2015. Т. 100. № 6. С. 595–601.
7. Бобров А. А., Мовергоз Е. А. Экологические и фитоценотические особенности *Batrachium circinatum*, *B. trichophyllum* и *B. kauffmannii* (Ranunculaceae) // Ботанический журнал. 2014. Т. 99. № 3. С. 325–339.
8. Бобров А. А., Мочалова О. А. Заметки о водных сосудистых растениях Магаданской области // Ботанический журнал. 2013. Т. 98. № 10. С. 1287–1299.
9. Бобров А. А., Мочалова О. А. Заметки о водных сосудистых растениях Якутии по материалам якутских гербариев // Новости систематики высших растений. 2014. Т. 45. С. 122–144.
10. Бобров А. А., Мочалова О. А., Чемерис Е. В. Заметки о водных и прибрежно-водных сосудистых растениях Камчатки // Ботанический Журнал. 2014. Т. 99. № 9. С. 1025–1043.

- 11.Верстакова А. В. Карта реки Енисей от Красноярской ГЭС до устья реки Ангара. Санкт-Петербург: ФГУ «Енисейречтранс», ГБУ «Волго-Балт», 2008. 91 с.
- 12.Ефимова Л. А., Толмачев А. В., Ефимов Д. Ю. Водные сосудистые растения в национальном парке «Шушенский бор» (Минусинская котловина) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2022. Т. 21. № 2. С. 34–37.
- 13.Иванова М. О., Волкова П. А., Копылов-Гуськов Ю. О., Бобров А. А. Флористические находки в южных природных районах Республики Тувы и в охранной зоне заповедника «Убсунурская котловина» // Turczaninowia. 2017. Т. 20. № 4. С. 15–25.
- 14.Капитонова О. А. Новый вид шелковника *Batrachium* (Ranunculaceae) из Удмуртии // Ботанический журнал. 2006. Т. 91. № 2. С. 276–278.
- 15.Киприянова Л. М. О новых местонахождениях малоизвестных и редких для Западной Сибири водных растений // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отд. Биол. 2018. Т. 123. № 3. С. 84–85.
- 16.Киприянова Л. М., Романов Р. Е. Флористические находки в Республике Алтай // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. Т. 3. № 54. С. 176–185.
- 17.Кречетович В. И. Род 536. Шелковник, водяной лютик — *Batrachium* S. F. Gray // Флора СССР. Т. 7. Москва-Ленинград: Издательство АН СССР, 1937. С. 335–350.
- 18.Крылов П. Н. Род *Ranunculus* L. // Флора Западной Сибири. Т. 5. Томск: Издание Томского Отделения Русского Ботанического Общества, 1931. С. 1176–1209.
- 19.Лебедева О. А., Лапиров А. Г. Особенности онтогенеза *Batrachium trichophyllum* (Ranunculaceae) // Ботанический Журнал. 2005. Т. 90. № 11. С. 1744–1752.
- 20.Лебедева О. А., Лапиров А. Г. Ритм сезонного развития и морфологическая поливариантность *Batrachium circinatum* (Sibth.) Sprach на Рыбинском водохранилище // Биология Внутренних Вод. 2009. № 3. С. 36–40.

21. Луферов А. Н. Род 19. *Batrachium* (DC.) S. F. Gray — Шелковник, водяной лютик — Суглютиги // Определитель растений Республики Тывы. Новосибирск: Издательство СО РАН, 2007. С. 91–92.
22. Мовергоз Е. А., Синюшин А. А., Зайцева А. Я., Лапиров А. Г. О гибридной природе *Ranunculus* × *glueckii* A. Felix ex C.D.K. Cook (Ranunculaceae) // *Turczaninowia*. 2011. Т. 14. № 4. С. 29–40.
23. Мовергоз Е. А., Бобров А. А. Сравнительная морфология и биология водяных лютиков *Ranunculus circinatus*, *R. trichophyllus* и *R. kauffmanii* (*Batrachium*, Ranunculaceae) в Средней России. // Труды ИБВВ РАН. 2016. Т. 76. № 79. С. 93–118.
24. Мовергоз Е. А., Бобров А. А. Биоморфологические особенности североамериканского гомофилльного водяного лютика *Ranunculus longirostris* (*Batrachium*, Ranunculaceae) // Биология Внутренних Вод. 2019. Т. 4. № 2. С. 16–25.
25. Муранов А. П. Ресурсы поверхностных вод СССР. Том 16. Ангаро-Енисейский Район. Выпуск 1. Енисей. Ленинград: Гидрометеиздат, 1973. 724 с.
26. Муратова Е. Н., Горячкина О. В., Корнилова М. Г., Пименов А. В., Седельникова Т. С., Болсуновский А. Я. Цитогенетическое изучение водных растений акватории Енисея в зоне радиационного загрязнения // Известия Российской Академии Наук. Серия Биологическая. 2014. № 5. С. 510–517.
27. Попов М. Г. Флора Средней Сибири. Том I // 1957. С. 556.
28. Пospelова Е. Б., Пospelов И. Н. Флора сосудистых растений Таймыра и сопредельных территорий. Часть 1. Аннотированный список флоры и ее общий анализ // 2007. С. 457.
29. Приймаченко А. Д., Шевелева Н. Г., Покатилова Т. Н., Пырина И. Л., Белавская А. П., Баженова О. П. Продукционно-гидробиологические исследования Енисея. // 1993. С. 197.
30. Сергиевская Л. П. Флора Красноярского края. Выпуск 5, часть 3 // 1976. С. 122.

31. Степанов Н. В. Флора северо-востока Западного Саяна и острова Отдыха на Енисее (г. Красноярск) // 2006. С. 170.
32. Тимохина С. А. 27. *Batrachium* (DC.) S. F. Gray — Шелковник (водяной лютик) // Флора Сибири. Т. 6: *Portulacaceae* — *Ranunculaceae*. Новосибирск: ВО «Наука». Сибирская издательская фирма, 1993. С. 161–165.
33. Цвелёв Н. Н., Гринталь А. Р. Род 26. Шелковник — *Batrachium* (DC.) S. F. Gray // Флора Восточной Европы. Т. 10. Санкт-Петербург: Издательство СПХФА, 2001. С. 165–174.
34. Черепнин Л. М. Флора южной части Красноярского края. Т. 3 // 1961. С. 252.
35. Шауло Д. Н. Сосудистые растения государственного природного заповедника «Азас» (Тыва) // 1998. С. 98.
36. Щербина С. С. Флора сосудистых растений Центральносибирского государственного биосферного заповедника и сопредельных территорий // *Turczaninowia*. 2009. Т. 12. № (1-2). С. 71–241.
37. Akbary R., Pakravan M., Naqinejad A. Morphological and palynological studies in *Ranunculus* (L.) sect. *Batrachium* (DC.) Gray in Iran // *Nov. Biol. Reper.* 2017. Т. 4. № 1. С. 19–27.
38. Barrett S. C. H., Eckert C. G., Husband B. C. Evolutionary processes in aquatic plant populations // *Aquat. Bot.* 1993. Т. 44. С. 105–145.
39. Bobrov A. A., Zalewska-Gałosz J., Jopek M., Movergoz E. A. *Ranunculus schmalhauseni* (section *Batrachium*, *Ranunculaceae*), a neglected water crowfoot endemic to Fennoscandia—a case of rapid hybrid speciation in postglacial environment of North Europe // *Phytotaxa*. 2015. Т. 233. № 2. С. 101–138.
40. Bobrov A. A., Butkuvienė J., Chemeris E. V., Patamsytė J., Lambertini C., Aučina A., Sinkevičienė Z., Naugžemys D. Extensive hybridization in *Ranunculus* section *Batrachium* (*Ranunculaceae*) in rivers of two postglacial landscapes of East Europe // *Sci. Rep.* 2022. Т. 12. № 1. С. 1–15.
41. Bolsunovsky A. Y., Dementyev D. V., Trofimova E. A. Biomonitoring of radioactive contamination of the Yenisei River using aquatic plants // *J. Environ. Radioact.* 2020. Т. 211. № 106100. С. 1–12.

42. Butkuvienė J., Sinkevičienė Z., Naugžemys D., Žvingila D., Skridaila A., Bobrov, A. A., Genetic diversity of aquatic ranunculus (*Batrachium*, Ranunculaceae) in one river basin caused by hybridization // *Plants*. 2020. T. 9. № 11. C. 1–17.
43. de Candolle A. P. *Regni vegetabilis systema naturale*. Vol. 1 // 1818. C. 564.
44. Chen J.-M., Du Z.-Y., Yuan Y.-Y., Wang Q.-F. Phylogeography of an alpine aquatic herb *Ranunculus bungei* (Ranunculaceae) on the Qinghai-Tibet Plateau // *J. Syst. Evol.* 2014. T. 52. № 3. C. 313–325.
45. Cook C. D. K. A monographic study of *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (DC.) A. Gray. // *Mitteilungen der Bot. Staatssammlung München*. 1966. T. 6. C. 47–237.
46. Dahlgren G. *Ranunculus* subgenus *Batrachium* on the Aegean islands and adjacent areas: nectary types and breeding system // *Nord. J. Bot.* 1992. T. 12. № 3. C. 299–310.
47. Dahlgren G. Differentiation patterns in *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (Ranunculaceae) // *Plant Syst. Evol. (Suppl.)*. 1995. T. 9. C. 305–317.
48. Dahlgren G., Svensson L. Variation in leaves and petals of *Ranunculus* subgenus *Batrachium* on the Aegean Islands, analysed by multivariate analysis // *Bot. J. Linn. Soc.* 1994. T. 14. C. 253–270.
49. De-yuan H. A biosystematic study on *Ranunculus* subgenus *Batrachium* in S Sweden // *Nord. J. Bot.* 1991. T. 11. C. 41–59.
50. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochem. Bull.* 1987. T. 19. № 1. C. 11–15.
51. Fernández I., Diosdado J. C., Pastor J. Morfología polínica de *Ranunculus* L. subgénero *Batrachium* (DC.) A. Gray en la Península Ibérica // *Lagascalía*. 1997. T. 20. № 1. C. 99–106.
52. Garbey C., Thiébaud G., Muller S. Morphological plasticity of a spreading aquatic macrophyte, *Ranunculus peltatus*, in response to environmental variables // *Plant Ecol.* 2004. T. 173. C. 125–137.
53. Gebler D., Zalewska-Gałosz J., Jopek M., Szoszkiewicz K. Molecular identification and habitat requirements of the hybrid *Ranunculus circinatus* × *R.*

- fluitans* and its parental taxa *R. circinatus* and *R. fluitans* in running waters // *Hydrobiologia*. 2022. T. 849. C. 2999–3014.
54. Grace J. B. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective // *Aquat. Bot.* 1993. T. 44. C. 159–180.
55. Gray S. F. Natural Arrangement of British Plants. Vol. 2 // 1821. C. 757.
56. Hiern W. P. On the forms and distribution over the world of the *Batrachium* section of *Ranunculus* // *J. Bot.* 1871. T. 9. C. 43–49, 65–69, 97–107.
57. Hijmans R. J., Guarino L., Bussink C., Mathur P., Cruz M., Barrantes I., Rojas E. DIVA-GIS, Sistema de Información Geográfica para el Análisis de Datos de Distribución de Especies // 2004.
58. Hörandl E., Paun O., Johansson J. T., Lehnebach C., Armstrong T., Chen L., Lockhart P. Phylogenetic relationships and evolutionary traits in *Ranunculus* s.l. (Ranunculaceae) inferred from ITS sequence analysis // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2005. T. 36. № 2. C. 305–327.
59. Hörandl E., Emadzade K. Evolutionary classification: A case study on the diverse plant genus *Ranunculus* L. (Ranunculaceae) // *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 2012. T. 14. № 4. C. 310–324.
60. Jeanmonod D., Naciri Y. Révision taxonomique de *Ranunculus* sect. *Batrachium* en Corse: Une analyse morphologique et statistique // *Candollea*. 2021. T. 76. № 2. C. 275–292.
61. Koga K., Kadono Y., Setoguchi H. The genetic structure of populations of the vulnerable aquatic macrophyte *Ranunculus nipponicus* (Ranunculaceae) // *J. Plant Res.* 2007. T. 120. C. 167–174.
62. Koga K., Kadono Y., Setoguchi H. Phylogeography of Japanese water crowfoot based on chloroplast DNA haplotypes // *Aquat. Bot.* 2008. T. 89. C. 1–8.
63. Koutecký P. Morphological and ploidy level variation of *Centaurea phrygia* agg. (Asteraceae) in the Czech Republic, Slovakia and Ukraine // *Folia Geobot.* 2007. T. 42. C. 77–102.
64. Koutecký P., Prančl J., Košnar J., Koutecká E., Hanzlíčková J., Lučanová M., Nejedlá M., Kaplan Z. Waking up from a taxonomist's nightmare: emerging

- structure of *Ranunculus* section *Batrachium* (Ranunculaceae) in central Europe based on molecular data and genome sizes // Bot. J. Linn. Soc. 2022. T. 198. № 4. C. 417–437.
65. Kravchuk E. S., Dubovskaya O. P., Shulepina S. P., Anishchenko O. V., Ivanova E. A., Glushchenko L. A., Sushchik N. N., Makhutova O. N., Kolmakova A. A., Tolomeev A. P., Drobotov A. V., Ageev A. V., Morozova I. I., Anishchenko Y. D., Gladyshev M. I. Effect of Anthropogenic Factors on the Ecosystem of the Yenisei River Anabranch within the City of Krasnoyarsk // J. Sib. Fed. Univ. - Biol. 2021. T. 14. № 2. C. 208–237.
66. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. T. 35. № 6. C. 1547–1549.
67. Les D. H., Philbrick C. T. Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications // Aquat. Bot. 1993. T. 44. C. 181–228.
68. Linnaeus C. Species plantarum: exhibentes plantas rite cognitae ad genera relatas. Vol. 1. // 1753. C. 1–560.
69. Lumbreras A., Molina J. A., Benavent A., Marticorena A., Pardo C. Disentangling the taxonomy and ecology of South American *Ranunculus* subgen. *Batrachium* // Aquat. Bot. 2014. T. 114. C. 21–28.
70. Marhold K. Multivariate morphometrics and its application to monography at specific and infraspecific levels // Monographic plant systematics: fundamental assessment of plant biodiversity. Ruggell: A.R.G. Gantner Verlag K. G., 2011. C. 73–99.
71. Du Mortier M. B.-C. Monographie du genre *Batrachium* // Bull. Soc. Bot. Belg. 1863. T. 2. C. 207–219.
72. Pizarro J. Contribución al estudio taxonómico de *Ranunculus* L. subgen. *Batrachium* (DC.) A. Gray (Ranunculaceae) // Lazaroa. 1995. T. 15. C. 21–113.
73. Prančl J., Koutecky P., Travniček P., Jarolimova V., Lučanová M., Koutecká E., Kaplan Z. Cytotype variation, cryptic diversity and hybridization in *Ranunculus*

- sect. *Batrachium* revealed by flow cytometry and chromosome numbers // *Preslia*. 2018. T. 90. № 3. C. 195–223.
74. R. Core Team. R: A language and environment for statistical computing // 2013.
75. Šlenker M., Koutecký P., Marhold K. MorphoTools2: An R package for multivariate morphometric analysis // *Bioinformatics*. 2022. T. 38. № 10. C. 2954–2955.
76. Sokal R. R., Mitcheener C. D. A statistical method for evaluating systematic relationships // *Kansas Univ. Sci. Bull.* 1958. T. 38. C. 1409–1438.
77. Telford A., O'Hare M.T., Cavers S., Holmes N. Can genetic bar-coding be used to identify aquatic *Ranunculus* L. subgenus *Batrachium* (DC) A. Gray? A test using some species from the British Isles // *Aquat. Bot.* 2011. T. 95. № 1. C. 65–70.
78. Vilas M. P., Adams M. P., Oldham C. E., Marti C. L., Hipsey M. R. Fragment dispersal and plant-induced dieback explain irregular ring-shaped pattern formation in a clonal submerged macrophyte // *Ecol. Modell.* 2017. T. 363. C. 111–121.
79. Ward J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function // *J. Amer. Stat. Assoc.* 1963. T. 58. № 301. C. 236–244.
80. Wickham H., Bryan J. readxl: Read excel files // 2019.
81. Wiegleb G. Notes on Japanese *Ranunculus* subgenus *Batrachium* // *Acta Phytotaxon. Geobot.* 1988. T. 39. № 4. C. 117–132.
82. Wiegleb G., Bobrov A. A., Zalewska-Gałosz J. A taxonomic account of *Ranunculus* section *Batrachium* (Ranunculaceae) // *Phytotaxa*. 2017. T. 319. № 1. C. 1–55.
83. Wiegleb G., Desfayes M., Bobrov A. A. *Ranunculus oblitus* (section *Batrachium*, Ranunculaceae), a new species from South America // *Phytotaxa*. 2022. T. 559. № 2. C. 132–144.
84. Zalewska-Gałosz J., Jopek M., Ilnicki T. Hybridization in *Batrachium* group: Controversial delimitation between heterophyllous *Ranunculus penicillatus* and the hybrid *Ranunculus fluitans* × *R. peltatus* // *Aquat. Bot.* 2014. T. 120. C. 160–168.

85. Zotina T. A. The biomass of macrophytes at several sites of the upper reaches of the Yenisei river // J. Sib. Fed. Univ. Biol. 2008. № 1. C. 102–108.
86. Zotina T. A. Phytomass and Specific Diversity of Macrophyte Vegetation in the Middle Reach of the Yenisei River // J. Sib. Fed. Univ. Biol. 2014. T. 7. № 1. C. 73–86.

Приложение А
Выделенные оперативные таксономические единицы (OTU)

«Таксон» (код)	«Ценопопуляция» (код)	Число образцов
<i>R. subrigidus</i> (S)	Точка №1, сентябрь 2019 (S_1_sep19)	1
	Точка №3, октябрь 2021 (S_3_oct21)	3
	Точка №3, октябрь 2022 (S_3_oct22)	4
	Точка №3, ноябрь 2022 (S_3_nov22)	5
	Точка №6, сентябрь 2011 (S_6_sep11)	7
	Точка №6, октябрь 2022 (S_6_oct22)	3
	Точка №7, октябрь 2022 (S_7_oct19)	8
	Точка №17, август 2013 (S_17_aug13)	4
<i>R. subrigidus</i> × <i>R. trichophyllus</i> . По морфологии ближе к <i>R. subrigidus</i> (SxT)	Точка №1, сентябрь 2022 (S_1_sep22)	5
	Точка №5, август 2022 (SxT_5_aug22)	9
	Точка №8, август 2022 (SxT_8_aug22)	13
<i>R. subrigidus</i> × <i>R. trichophyllus</i> . По морфологии ближе к <i>R. trichophyllus</i> . (TxS)	Точка №6, октябрь 2021 (TxS_6_oct21)	8
	Точка №7, июль 2022 (TxS_7_jul22)	3
<i>R. trichophyllus</i> (T)	Точка №1, сентябрь 2022 (T_1_sep22)	1
	Точка №6, сентябрь 2021 (T_6_sep21)	2
<i>R. trichophyllus</i> × <i>R. kauffmanii</i> . По морфологии ближе к <i>R. kauffmanii</i> . (TxK)	Точка №2, август 2008 (TxK_2_aug08)	1
	Точка №7, сентябрь 2021 (TxK_7_sep21)	1
	Точка №11, сентябрь 2022 (TxK_11_sep22)	9
	Точка №14, сентябрь 2007 (TxK_14_sep07)	2
<i>R. kauffmanii</i> (K)	Точка №6, (K_6_oct21)	2
	Точка №6, (K_6_oct22)	6

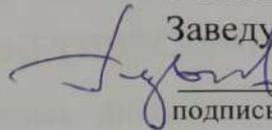
Окончание приложения А

«Таксон» (код)	«Ценопопуляция» (код)	Число образцов
<i>R. kauffmanii</i> (K)	Точка №7, (K_7_oct19)	8
	Точка №9, (K_9_aug22)	5
	Точка №10 (K_10_sep22)	11
	Точка №11, (K_11_sep10)	2
	Точка №11, (K_11_sep19)	5
	Точка №11, (K_11_sep21)	7
	Точка №11, (K_11_sep22)	4
	Точка №13, (K_13_aug10)	2
	Точка №13, (K_13_aug20)	2
	Точка №13, (K_13_oct21)	7
	Точка №16, (K_16_aug19)	2
	Точка №16, (K_16_aug20)	2
	<i>R. kauffmanii</i> наземная форма (K(ter))	Точка №10, (K(ter)_10_sep22)
Точка №12, (K(ter)_12_oct11)		4
Точка №15, (K(ter)_15_sep12)		2
<i>R. sp_1</i> (Sp1)	Точка №4 (Sp1_4_jul22)	18
	Точка №7 (Sp1_7_jul22)	12
<i>R. sp_2</i> (Sp2)	Точка №7 (Sp2_7_jul22)	16

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

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 М.И. Гладышев
подпись инициалы, фамилия

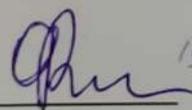
« _____ » _____ 20 ____ г.

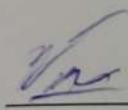
МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

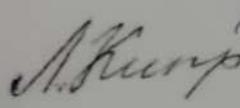
Разнообразие водных лютиков секции шелковников (*Ranunculus*
sect. *Batrachium*, Ranunculaceae) в среднем течении реки Енисей

Направление подготовки 06.04.01 – Биология

Профиль 06.04.01.04 – Гидробиология и ихтиология

Руководитель  ^{19.06.23} _____ доцент, к.б.н. И.П. Филиппова
подпись, дата должность, учёная степень инициалы, фамилия

Выпускник  ^{19.06.23} _____ И.Д. Минаков
подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент  ^{19.06.23} _____ в.н.с., д.б.н. Л.М. Киприянова
подпись, дата должность, учёная степень инициалы, фамилия