На правах рукописи

Крицкая Татьяна Алексеевна

ФИЛОГЕОГРАФИЯ СТЕПНЫХ РАСТЕНИЙ КАК ОТРАЖЕНИЕ ДИНАМИКИ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПРИКАСПИЯ

1.5.9. Ботаника

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук

Москва 2024

Работа выполнена на кафедре генетики биологического факультета и на базе лаборатории молекулярной биологии и цитогенетики учебно-научного центра «Ботанический сад» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского»

Научный консультант:

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Сухоруков Александр Петрович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Родионов Александр Викентьевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биосистематики и цитологии ФГБУН «Ботанического института имени В.Л. Комарова» Российской академии наук

Шмаков Александр Иванович, доктор биологических наук, профессор, директор УПБП «Южно-Сибирский ботанический сад», профессор кафедры ботаники ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет»

Ведущая организация:
Уфимский институт биологии – обособленное структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Защита состоится _____ 2024 г. на заседании диссертационного совета 24.1.022.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН) по адресу: 127279, г. Москва, ул. Ботаническая, д. 4, конференц-зал. Факс: 8-499-977-91-72.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБС РАН и на сайте www.gbsad.ru.

Автореферат разослан «___» _____

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук А.С. Рябченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и разработанность темы исследования. Понто-Каспий (Черное, Азовское и Каспийское моря) − это система отличающихся друг от друга природными особенностями и историей палеогеографического развития внутриконтинентальных водоемов − реликтов бассейна Восточного Паратетиса (Янина, 2009). Согласно палинологическим данным, растительный покров прилегающих к Каспию территорий претерпевал многократные смены в течение плиоцен-четвертичного времени, которые происходили синхронно и были связаны с общими климатическими изменениями в пределах всего бассейна (Абрамова, 1977). Наиболее серьезные перестройки фитоценозов, сопровождавшиеся миграциями отдельных флористических элементов, имеющих различные экологические амплитуды, датируются возрастом 24−17 тыс. лет назад (Чеботарева, Макарычева, 1982; Гричук, 1989; Эволюция…, 2008), что соответствует эпохе максимального похолодания последнего оледенения (LGM – Last Glacial Maximum) и Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря. В это время формировались своеобразные структурные единицы растительного покрова, не имеющие аналогов в современной растительности (Гричук, 1969, 1982, 1989; Артюшенко, 1970; Спиридонова, 1991; Болиховская и др., 1995; Болиховская и др., 2001; Маркова и др., 2002; Симакова, Пузаченко, 2005).

Однако пространственные границы этих перестроек и участие тех или иных элементов в формировании растительного покрова остаются предметом дискуссий.

Моделирование современных типов растительности на основе данных споро-пыльцевого анализа позволило выявить умеренный уровень ошибки при сопоставлении потенциальных (реконструированных на основе полученных данных) и фактических фитоценозов (Binney et al., 2017). С одной стороны, эту погрешность создают древесные таксоны, которые производят большое количество пыльцы, и накладываются на нелесные типы растительности, такие как тундра и степь. С другой стороны, её обусловливает перекрываемость палинологических спектров по многим элементам растительности степи, пустыни и сухой тундры, так как эти формации имеют целый ряд общих таксонов и зачастую оказываются за пределами разрешения метода споро-пыльцевого анализа. Реконструкции типов растительности позднего плейстоцена и голоцена дают сходные погрешности. В результате оказывается невозможным, во-первых, достоверно различить степь и сухую тундру, а во-вторых, − выявить границы распространения лесных и, тем более, лесостепных фитоценозов (Binney et al., 2017).

Для прояснения этих вопросов необходимы филогеографические исследования таксонов, представляющих разные типы растительности, на уровне видов и популяций с датировкой филогении, реконструкцией их предковых ареалов, а также выявлением корреляции их генезиса с историей ландшафта и климата (Hurka et al. 2019). Кроме того, данные о

происхождении таксономически сложных групп могут позволить прояснить их систематику и грамотно спланировать природоохранные мероприятия.

Наиболее рациональные подходы к сохранению редких и исчезающих видов растений могут быть найдены, если специалисты по охране природы будут владеть информацией о генетической структуре, полиморфизме, генезисе и других характеристиках популяций, поскольку морфологическая изменчивость может не коррелировать с ней (Allendorf, 2017; Hohenlohe et al., 2021; Sramkó, 2023). Например, у многих степных видов или комплексов видов, как животных, так и растений, Восточной и Центральной Европы выявлена высокая генетическая разнородность популяций из разных регионов исследования без проявления этой разнородности на морфологическом уровне (Kajtoch et al., 2013, 2016; Kropf et al., 2020). Наличие отдельных филогенетических линий и/или генетических кластеров у таких объектов интерпретируется как наличие различных «эволюционно значимых единиц» и/или «единиц регулирования» (Moritz 1994; Vogler, DeSalle 1994; Sramkó, 2023), которые необходимо учитывать при проведении природоохранных мероприятий. Отдельные эволюционные единицы часто имеют разные экологические требования, поэтому смешивание особей из разных генетических линий (например, при интродукции) может иметь негативные последствия для адаптивного потенциала генофонда (Frankham et al., 2002). К тому же, эти эволюционные единицы могут представлять таксономическую ценность (Ferchaud et al., 2012; Gvozdik et al., 2012; Németh et al. 2013; Cserkész et al. 2015; Zinenko et al., 2015; Kajtoch et al., 2014, 2016).

Очевидно, что невозможно сохранить все популяции всех видов, обладающих существенной генетической самобытностью (даже невозможно было бы исследовать все эти популяции!). Приоритетом в сохранении должна быть защита тех территорий, которые характеризуются наибольшим биоразнообразием, и одновременное сохранение отдельных генетических единиц некоторых ключевых видов.

Цель исследования состояла в выявлении генетического и морфологического полиморфизма популяций редких видов растений Понтийско-Каспийской степи и последующей реконструкции филогеографии этих видов в связи с динамикой климата и ландшафта бассейнов Понто-Каспия в плиоцен-четвертичное время.

Для достижения цели были поставлены **следующие задачи:**

1. Изучить генетическую структуру популяций редких видов из разных типов растительности (степь: *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*, *Tulipa suaveolens* и *Delphinium puniceum*; лесостепь: *Fritillaria ruthenica* и таксоны *Delphinium* юго-востока России; экстразональная растительность: *F. meleagroides* (заливные луга) и *Globularia bisnagarica* (местообитания на выходах кальций-содержащих материнских горных пород)), ареал которых охватывает территорию Понтийско-Каспийской степи;
2. Определить закономерности пространственного распределения генетического полиморфизма исследованных видов и провести

филогеографический анализ с привлечением данных молекулярного датирования;

3. Оценить корреляции филогеографических реконструкций истории формирования современных ареалов изученных видов с существующими палеогеографическими реконструкциями;

4. Выявить основные закономерности морфологической изменчивости в популяциях исследованных видов в пределах бассейнов Понто-Каспия и оценить их связь с генетической структурой;

5. Обосновать пути охраны уникальных эволюционных единиц на основе выявленных закономерностей пространственного размещения генетического полиморфизма и истории популяций.

Положения, выносимые на защиту:

1. Пространственная структура генетического полиморфизма степных эфемероидов коррелирует с границами Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря и отражает динамику растительности Прикаспия в позднем плейстоцене.

2. Степные участки, расположенные на территории Калачской и Ергенинской возвышенностей, восточных склонах Приволжской возвышенности, Общего Сырта, Медведицких Яров, Донецкого кряжа и холма Большое Богдо, сохранялись на протяжении всего позднего плейстоцена и голоцена и представляют собой степные рефугиумы ледниковых и межледниковых стадий.

3. Расселение таксонов рода *Delphinium* на территории юго-востока России происходило в двух направлениях: первое – со стороны Средиземноморья на Кавказ и Предкавказье в конце плиоцена; второе – со стороны Средней и Центральной Азии (горы Памир и Тянь-Шань, Тибетское нагорье) на Восточно-Европейскую равнину − в позднем плейстоцене и на Кавказ − в голоцене. Первое связано с миграцией ксерофитных и мезофитных форм в результате аридизации климата, второе – с распространением экотонных лесостепных сообществ в теплые межледниковые эпохи позднего плейстоцена.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное популяционно-генетическое исследование ряда редких видов растений (*T. suaveolens*, *F. meleagroides*, *F. ruthenica*, *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*, *G. bisnagarica*, 23 таксона *Delphinium* юго-востока России) на обширной части их ареалов в пределах европейской части России. Впервые выявлены биогеографические закономерности распределения их генетического полиморфизма и проведены филогеографические реконструкции в связи с историей ландшафта и климата на уровне видов и популяций. Для *T. suaveolens* и 16 таксонов *Delphinium* впервые проведен анализ молекулярного датирования. Впервые выявлены основные закономерности морфологической изменчивости в популяциях *T. suaveolens*, *F. meleagroides*, *F. ruthenica* и *C. bulbocodium* subsp. *versicolor* на обширной части их ареалов в пределах европейской части России и установлена их связь с биоклиматическими, топографическими и

генетическими факторами. Впервые секвенированы последовательности ДНК 16 видов *Delphinium*, включая *D. puniceum*.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследований позволяют расширить представления о богатстве и уязвимости генофондов редких видов растений, биогеографических закономерностях их пространственного распределения и взаимосвязи генетической и морфологической изменчивости популяций. Молекулярно-филогеографические реконструкции степных и луговых травянистых растений, включающие корреляции с историей климата и ландшафта, вносят вклад в понимание эволюции степных местообитаний, направлений их колонизации представителями из разных прапопуляций, районы происхождения полиморфизма и маршруты миграции цветковых растений.

Полученные данные позволяют оценить влияние происходящих изменений климата и ландшафта на генетическую изменчивость отдельных видов и биоразнообразие в целом. Показана применимость филогеографических методов для уточнения спорных палеогеографических реконструкций.

Зарегистрировано более 700 последовательностей ДНК охраняемых видов растений в международной базе данных GenBank (NCBI), которые могут использоваться для идентификации растительных образцов и определения их регионального происхождения в судебной экспертизе (Рябухина, Крутовский, 2023). С 2013 года в учебно-научном центре «Ботанический сад» Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского ведутся работы по сохранению редких и исчезающих видов растений Саратовской области в генетическом банке *in vitro* (Блюднева и др., 2014; Крицкая, Кашин, 2016; Крицкая, 2017). Апробированы протоколы клонального микроразмножения *T. suaveolens*, *F. meleagroides* и *F. ruthenica in vitro* и получены жизнеспособные растения-регенеранты. Описан морфогенез *T. suaveolens* в культуре *in vitro*. Вынесены практические рекомендации по сохранению редких генотипов *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*. Материалы диссертации использованы при составлении третьего издания Красной книги Саратовской области (2021).

Апробация работы. Основные положения и результаты работы докладывались и обсуждались на конференциях: VI и VII Региональная научная конференция «Исследования молодых ученых в биологии и экологии» (Саратов, 2014, 2015); VIII Всероссийская научно-практическая конференция «Аграрная наука в XXI веке: проблемы и перспективы» (Саратов, 2014); XXI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2014» секция «Биология» (Москва, 2014); I Региональная и II Всероссийская научно-практические конференции «Особо охраняемые природные территории Саратовской области: прошлое, настоящее, будущее» (Хвалынск, 2014, 2015); VI Международная научно-практическая конференция «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические,

эмбриологические, генетические и правовые аспекты) (Ялта, 2014); II Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2015); III Международная конференция «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» (Новосибирск, 2015); V Международная школа для молодых ученых «Эмбриология, генетика и биотехнология» (Санкт-Петербург, 2016); Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы экологии и природопользования», посвященная памяти Б.М. Миркина (Уфа, 2017); XIV Съезд Русского ботанического общества и конференция «Ботаника в современном мире» (Махачкала, 2018); The VIII International Scientific and Practical Conference «Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation (physiological, biochemical, embryological, genetic and legal aspects)» (Ялта, 2018); IV, V и XI Международная научно-практическая конференция «Особо охраняемые природные территории: прошлое, настоящее, будущее» (Хвалынск, 2017, 2018, 2019); Международная научно-практическая конференция «Вавиловские чтения» (Саратов, 2014, 2015, 2018, 2019); 9-я конференция памяти проф. А.К. Скворцова «Проблемы микроэволюции, систематики и изучения флоры» (Москва, 2020); III Всероссийская конференция с международным участием «Систематические и флористические исследования Северной Евразии» (Москва, 2023); I и II Всероссийская научная конференция с международным участием «Живые системы: передовые междисциплинарные технологии изучения, управления и сохранения» (Саратов, 2019, 2023).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 53 работы, из них: 11 статей в журналах, индексируемых в международных базах «ISI Web of Science» и/или «Scopus», 8 статей – в журналах рекомендованных ВАК РФ (не ниже К2), 31 статья – в реферируемых журналах и сборниках, а также 2 монографии и учебно-методическое пособие.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, 10 глав, выводов, списка литературы и приложений. Изложена на 511 страницах, в том числе на 300 страницах основного текста, иллюстрирована 84 рисунками, 40 таблицами и 19 приложениями. Список литературы включает 590 работ, в том числе 347 – на иностранных языках.

Связь работы с научными программами. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-00142 «Исследование состояния и структуры популяций *Tulipa gesneriana* L. на европейской части России» и при частичной поддержке грантов РФФИ 18-34-00061 «Исследование морфологического и генетического разнообразия у представителей рода *Delphinium* L. Поволжья и прилегающих территорий», РФФИ 20-34-90001 «Исследование генетического полиморфизма видов *Delphinium* L. Северного Кавказа и прилегающих территорий» и РНФ № 21-74-00004 «Полиморфизм популяций таксонов *Globularia* L. в европейской России в связи с их генезисом и расселением».

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному консультанту д.б.н. А.С. Кашину за помощь в организации полевых исследований и формулировании основной идеи работы; д.б.н. М.А. Березуцкому (Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов), д.б.н. И.А. Шанцеру (Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина, Москва) и д.б.н. Н. Фризену (Ботанический сад Университета Оснабрюк, Германия) за ценные замечания, позволившие улучшить работу; к.б.н. Р.А. Муртазалиеву (Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского ФИЦ РАН, Махачкала), д.б.н. Н.И. Фёдорову (Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Уфа), д.б.н. М.М. Ишмуратовой (Башкирский государственный университет, Уфа), к.б.н. Д.М. Анатову (Горный ботанический сад Дагестанского ФИЦ РАН, Махачкала), к.б.н. Ю.В. Пережогину (Костанайский государственный педагогический университет им. У. Султангазина, Казахстан) и д.б.н. Н. Снеговой (Институт зоологии НАН Азербайджана) − за помощь в сборе образцов. Автор выражает признательность сотрудникам Гербария Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (Москва), в частности А.П. Серегину, сотрудникам Гербария Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина (Москва), в частности Н.Ю. Степановой, сотрудникам Эдинбургского Королевского ботанического сада (Великобритания) за предоставленные гербарные образцы, а также Н.Н. Данилиной (Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина, Москва), П.С. Ключниковой (Даремский университет, Великобритания) и сотрудникам питомника «Jacques Amand» (Великобритания) за ценные консультации и любезное предоставление сортообразцов *T.* × *gesneriana* ранней селекции. Особую благодарность автор выражает сотрудникам учебно-научного центра «Ботанический сад» Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского (Саратов), принимавшим участие в поиске, сборе и камеральной обработке материала.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Природные условия, палеогеография и история развития растительного покрова Понто-Каспия в позднем кайнозое

Глава включает три раздела. В первом дан краткий обзор природных условий района исследований, который включает Нижнее Поволжье, Предкавказье, Северный Кавказ и Крым. Во втором приводятся современные представления о палеогеографии бассейнов Понто-Каспия и ледниковых событиях на Восточно-Европейской равнине. Основное внимание уделено колебаниям уровня бассейнов в позднем плейстоцене. В эпохи крупных трансгрессий площадь Каспия увеличивалась в 2,5 раза по сравнению с современной, а уровень повышался до абсолютной отметки +50 м. При этом максимальный уровень бассейна контролировался высотой восточного порога Маныча. Во время регрессий уровень Каспия опускался до отметок -100 (и ниже) м абс. Размах колебаний превышал 150 м (Свиточ, 1991; Svitoch, 1999; Янина, 2009; Dolukhanov et al., 2009; Tudryn et al., 2013; Yanina,

2014; Свиточ, 2015). В трансгрессивные эпохи уровень Понта поднимался незначительно − не выше 7 м, а площадь акватории увеличивалась в основном за счет затопления устьевых частей речных долин. Высота трансгрессий контролировалась уровнем Средиземного моря (Янина, 2009). В третьем разделе описаны краткая история развития растительного покрова Прикаспия и происхождение степей, акцентированы дискуссионные моменты, требующие прояснения.

Глава 2. Филогеографические реконструкции различных групп сосудистых растений в Европе и современное состояние исследований по выбранным объектам

Филогеография (рассмотрение генетических филогений в контексте пространства и времени) позволяет реконструировать историю вида на уровне его отдельных популяций (Avise et al., 1987) и анализировать взаимодействия разных эволюционных линий между собой. Во вводной части главы обсуждается высокое соответствие филогеографических реконструкций, проведенных разными авторами (Taberlet et. al, 1998; Hewitt, 2001; Hampe et al., 2003; Willis, van Andel, 2004; Carstens et al., 2005; Soltis et al., 2006; Pecsenye et al., 2007; Markova et al. 2009; Grimm, Denk, 2014; Kajtoch et al., 2013, 2016; Kropf et al., 2019; Sramkó et al., 2019; Volkova et al., 2013; 2020), палеоботаническим данным. В разделе освещается современное состояние исследований по каждому объекту исследования или ближайшим родственным видам.

Глава 3. Материал и методы исследования

Основными объектами исследования являлись популяции редких видов из разных типов растительности (степь: *C. bulbocodium* subsp. *versicolor*, *Tulipa suaveolens* и *Delphinium puniceum*; лесостепь: *Fritillaria ruthenica* и таксоны *Delphinium* юго-востока России; экстразональная растительность: *F. meleagroides* (заливные луга) и *Globularia bisnagarica* (местообитания на выходах кальций-содержащих материнских горных пород)), ареал которых охватывает территорию Понтийско-Каспийской степи. Выбор объектов обусловлен имеющимися в литературе данными об их редкости и предполагаемом времени дивергенции и расселения. Глава содержит подробные указания точек сбора материала, годы наблюдений, номера гербарных листов (если материал был взят из общедоступных гербарных коллекций).

Размер выборки. Измерение морфологических признаков проводилось у 30 случайно выбранных особей генеративного онтогенетического состояния в каждой локальной популяции. Для ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) анализа отбирали по 10 особей, для секвенирования – по 3 (и более – в случае высокого морфологического разнообразия) особи из каждой локальной популяции.

Исследование ***T. suaveolens*** проводили в 65 локальных популяциях из Астраханской, Волгоградской, Оренбургской, Ростовской, Самарской и Саратовской обл., Краснодарского края, Республик Калмыкия и Дагестан, а

также из Крыма и Западного Казахстана. В анализ были также включены 19 гербарных образцов *T. suaveolens*, собранных в Волгоградской, Воронежской, Оренбургской, Ростовской областях РФ, Иране, Центральном Казахстане и Украине и хранящихся в гербариях E, MW и KSPI. С целью выяснения степени генетического родства между природным видом и культурным *T.* × *gesneriana* в анализ были включены образцы 8 сортов ранней селекции этого таксона: 'Duc van Tol – Red & Yellow' (1620), 'Duc van Tol – Rose' (1700), 'Duc van Tol – Max Cramoise' (1700), 'Silver Standart' (1760), 'Schoonoord' (1909), 'Kansas' (1930), 'White City' (1932), 'Barcelona' (1989).

Сбор материала ***F. meleagroides*** проводили в 10 локальных популяциях из Волгоградской, Воронежской, Ростовской, Самарской, Саратовской областей и республики Калмыкия; ***F. ruthenica*** − в 17 локальных популяциях из Волгоградской, Воронежской, Пензенской, Самарской, Саратовской областей. Для секвенирования использовали восемь маркеров хлДНК (*atp*B−*rbc*L, *mat*K, *trn*H−*psb*A, *trn*L−*trn*F, *trn*S−*trn*M, *rpo*C1, *rbc*L и *ycf1*) и спейсеры ITS1-5.8S-ITS2 рДНК. Полученные последовательности хлДНК *F. meleagroides* и *F. ruthenica* анализировали вместе.

Исследования ***C. bulbocodium*** **subsp.** ***versicolor*** проводили в 35 локальных популяциях из Белгородской, Волгоградской, Воронежской, Ростовской, Саратовской и Тамбовской областей. Для секвенирования использовали маркеры *trn*Y−*trn*D, *trn*H−*psb*A, *rbc*L и *rp*S16 хлДНК и спейсер ITS1 рДНК.

Нами исследовано 79 локальных популяций 23 таксонов рода ***Delphinium*** Северного Кавказа и юго-востока Европейской России (*D. arcuatum, D. bracteosum, D. caucasicum, D. crispulum, D. cuneatum, D. dictyocarpum, D. duhmbergii, D. elatum, D. elisabethae, D. fedorovii, D. flexuosum, D. freynii, D. gelmetzicum, D. litwinowii, D. macropogon, D. mariae, D. pubiflorum, D. puniceum, D. samurense, D. sergii, D. speciosum, D. subcuneatum, D. uralense*). Для секвенирования использовали десять некодирующих и потенциально высоко вариабельных фрагментов хлДНК: *ndh*C−*trn*V, ndhF, *pet*A−*psb*J, *psb*E−*pet*L, *trn*T−*psb*D (Dong et al., 2012), *trn*C−*pet*N (Lee, Wen, 2004) и *trn*L–*trn*F, *trn*H−*psb*A, *trn*S−*trn*G, *mat*K (Jabbour et al., 2012) и спейсер ITS2 рДНК.

Сбор материала ***G. bisnagarica*** проводили в 25-ти локальных популяциях, произрастающих на территории Саратовской, Ульяновской, Самарской, Оренбургской областей; Республик Башкортостан и Татарстан, а также Ставропольского края. Для анализа всей выборки использовали три маркера хлДНК (*trn*L−*trn*F, *rbc*L, *rpS*16) и спейсеры ITS1-5.8S-ITS2 рДНК. Выбор маркеров хлДНК обусловлен опубликованными данными других исследователей о высоком уровне полиморфизма этих маркеров для *Globularia* в целом (Hazler Pilepic et al., 2016; Affenzeller et al., 2018) и потенциальной возможностью сравнить полученные нами последователь-

ности ДНК с аналогичными последовательностями из недоступной нам части ареала (Франция и Хорватия).

ДНК для молекулярно-генетических исследований выделяли из листьев или листочков околоцветника, высушенных в силикагеле, с использованием набора NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel, Германия) согласно протоколу производителя. Для амплификации ДНК использовали «5X Mas^{DD}TaqMIX-2025» (Диалат Лтд., Москва), готовый для нанесения в гель. Секвенирование проводили на базе НПК «Синтол» (Москва, Россия).

Статистическая обработка результатов ISSR-анализа. Генетическое разнообразие в каждой популяции оценивали по доле полиморфных бэндов, среднему эффективному числу аллелей, среднему информационному индексу Шеннона, генетическому разнообразию Нея, общей генетической дифференциации и потоку генов с использованием программного обеспечения POPGene v 1.32 (Yeh, 1997) и/или GenAlEx 6.5 (Peakall, Smouse, 2012). Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) был проведён в программе ARLEQUIN 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010). Оценку зависимости потока генов от географических расстояний между популяциями проводили с помощью теста Мантеля. Предварительный анализ полученной матрицы проводили в программе SplitsTree 4 (Huson, Bryant, 2006) методом Neghbour Net и методом главных координат (PCoA) с использованием коэффициента Жаккара или Дайса в программе PAST (Hammer et al., 2001) либо статистической среде R (R Core Team, 2023). Анализ популяционной структуры проводили методом Байеса в программе STRUCTURE 2.3. (Pritchard et al., 2000; Evanno et al., 2005; Jakobsson, Rosenberg, 2007).

Для *Tulipa suaveolens* был сделан дополнительный анализ методом Байеса в программе NEW HYBRIDS 3.1.1 (Anderson et al., 2000) с целью выявления ограничений потока генов между популяциями вида, возникших в результате действия географических барьеров на этапе его расселения. Метод вычисляет апостериорную вероятность того, что каждая особь в выборке принадлежит одному из возможных гибридных классов, возникающих при вторичном контакте двух генетически дифференцированных и ранее изолированных друг от друга прапопуляций. Классы характеризуются долей локусов внутри особи, которые, как ожидается, несут 0, 1 или 2 копии гена, полученные от вида/прапопуляции *A* или *B*. Конфигурация NEW HYBRIDS по умолчанию учитывает шесть классов, которые представляют собой все возможные продукты двух поколений случайного скрещивания между двумя видами/прапопуляциями: *A* (первая родительская форма), *B* (вторая родительская форма), *F1* (гибриды первого поколения), *F2* (гибриды второго поколения), *BCA1* (бэккроссы к прапопуляции *A*) и *BCB1* (бэккроссы к прапопуляции *B*).

Статистическая обработка результатов секвенирования. Прямые и обратные последовательности собирали и выравнивали вручную в программе BioEdit 7.0.5.3. (Hall, 1999). Анализ методом статистической парсимонии проводили с использованием алгоритма, описанного в работе Templeton et al.

в (1992), и реализованного в программе TCS v. 1.21 (Clement et al., 2000). Для анализа географического распределения выявленных гаплотипов использовали приложение ArcGIS® 10.6 с последующей обработкой изображений в программе Corel DRAW® 2017. Байесовский филогенетический анализ был выполнен с помощью MrBayes 3.1.23 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). Модель эволюции последовательностей оценивали по информационному критерию Акаике с помощью jModeltest 3.7 (Darriba et al., 2012). Анализ AMOVA проводили в программе ARLEQUIN 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010) или SAMOVA 1.0 (Dupanloup et al., 2002). Вычисление зависимости потока генов от географических расстояний между популяциями проводили с помощью теста Мантеля в программе ARLEQUIN. Оценки времени дивергенции для набора данных ITS рода *Tulipa* проводили в программе BEAST 1.8. (Drummond, Rambaut, 2007), *C. bulbocodium* и *Delphinium* – в программе MEGA X (Kumar et al. 2016) согласно пошаговому протоколу, подробно описанному в работе B. Mello (2018).

Морфологическая изменчивость. Поскольку при изучении генетического полиморфизма возникает закономерный вопрос о его фенотипическом проявлении, для каждого объекта проводили измерения морфологических параметров вегетативной и генеративной сфер. Для выявления основных направлений морфологической изменчивости использовали неметрическое многомерное шкалирование (NMDS) и/или анализ главных компонент (PCA). Анализ включал 19 биоклиматических характеристик, высоты над уровнем моря, географическую широту и долготу мест произрастания локальных популяций с пространственным разрешением 0.5 минуты (1 км) из открытой базы WorldClim ver. 2.0 (Fick, Hijmans, 2017). Обработка данных и статистический анализ выполнялись в R ver. 4.1.2 (R core team, 2023).

Определение цвета листочков околоцветника *T. suaveolens* проводилось по цифровым фотографиям при помощи программы Adobe Photoshop CS9 (Adobe Inc., США) с использованием цветовой модели LAB, основанной на параметрах яркости *L* и двух хроматических компонентах – *a* и *b*. Анализ возможных связей между окраской околоцветника *T. suaveolens* и пластидными или ITS-гаплотипами проводили в программе STATISTICA 10.0. с использованием теста χ^2 Пирсона с *V* Крамера.

Глава 4. Генетическая дифференциация *Tulipa suaveolens* в Европейской части ареала

В российской ботанической литературе *Tulipa suaveolens* более известен под названием *T. schrenkii* (Мордак 1979, 1990; Литвинская, 2008; Маевский, 2014). Первоначально считалось, что *T. suaveolens* представляет собой старый сорт культурного тюльпана, например, красно-желтая форма из группы сортов Duc van Tol, так как его описание было сделано не по образцам природного вида (Christenhusz et al., 2013). Но по результатам исследования размера генома и ряда морфологических признаков *T. schrenkii* и *T. suaveolens* оказались идентичными (Zonneveld, 2009), поэтому в

зарубежной литературе в настоящее время *T. schrenkii* считается его синонимом (Christenhusz et al., 2013; Everett, 2013). Однако при обработке рода *Tulipa* для «Флоры Европейской части СССР» сравнение типового материала видов *T. schrenkii* и *T. gesneriana* вызвало у Е. В. Мордак (1979) сомнения в самостоятельности первого из них. На этом основании позднее Е. В. Мордак (1990), посчитала, что описанный К. Линнеем (Linnaeus, 1753) *T. gesneriana* и есть исходный природный вид, которому впоследствии Э. Л. Регель (Regel, 1873) присвоил название *T. schrenkii*. M. Christenhusz с соавт. (2013) считают, что *T. gesneriana* был одним из распространённых в Линнеевское время садовых тюльпанов, поскольку типовые образцы имеют крупные размеры, голые цветоножки, а один из экземпляров – пеструю окраску листочков околоцветника.

Полихромный *T. suaveolens* – один из типичных весеннецветущих видов Понтийско-Каспийской степи, ее характерный компонент. Луковичный поликарпик, эфемероид, высоко декоративный вид. Современный естественный ареал *T. suaveolens* охватывает юго-восток Украины, Крым, юг и юго-восток России, северный Иран, юг Азербайджана, северо-западный Казахстан (Everett, 2013). Численность многих популяций сокращается под воздействием антропогенных факторов, и вид занесен в Красные Книги РФ (Литвинская, 2008), Украины (Ткаченко, 2009), Казахстана (Быков, 1981) и Азербайджана (Ibadlı, Qaraxani, 2013).

Учитывая ограничения метода ISSR маркирования и большое число изучаемых популяций *T. suaveolens*, в первых трех разделах главы приводятся результаты локальных исследований, проведенных в Саратовской, Волгоградской областях и Крыму, с отбором генетически контрастных популяций и устранением дублирующих.

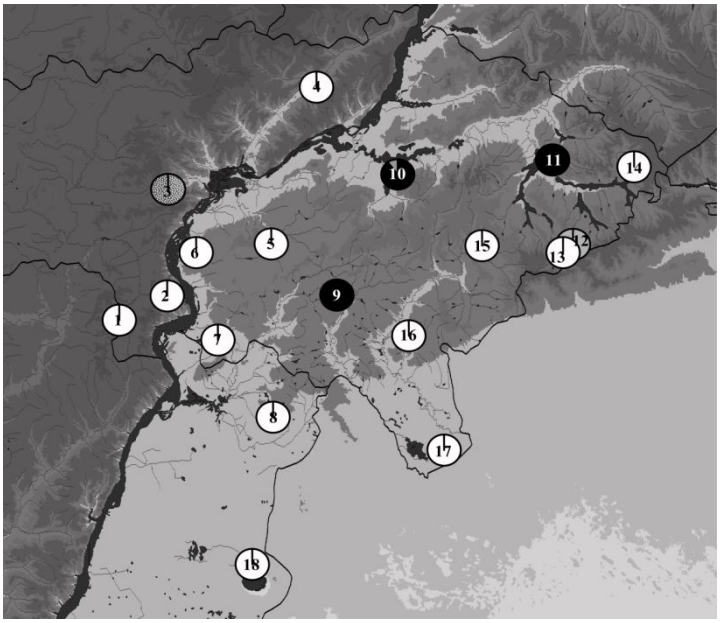


Рис. 1 − Распространение выявленных генетических кластеров *T. suaveolens* на территории Саратовской области. Светло-серым цветом выделена территория максимального затопления Каспийским морем при Раннехвалынской трансгрессии (50 м абс. (Свиточ, 2015) над современным уровнем Мирового океана)

Например, в Саратовской области (рис. 1) в результате байесовского анализа в программе STRUCTURE популяции *9−11* объединились в одну

Табл. 1 − Попарные значения степени дифференциации между популяциями *T. suaveolens* по *PhiPT*

		A			*B*	*C*
		Pop9	*Pop10*	*Pop11*	*Pop12*	*Pop3*
A	*Pop9*	-	-	-	-	-
	Pop10	0.465	-	-	-	-
	Pop11	0.472	0.573	-	-	-
B	*Pop12*	0.765	0.790	0.784	-	-
C	*Pop3*	0.644	0.616	0.614	0.649	-
D	*Pop1*	0.701	0.684	0.698	0.606	0.559
	Pop13	0.650	0.627	0.657	0.485	0.406
	Pop14	0.711	0.705	0.722	0.552	0.488
	Pop15	0.740	0.735	0.740	0.585	0.574
	Pop16	0.732	0.733	0.734	0.591	0.508
	Pop17	0.684	0.675	0.688	0.542	0.488
	Pop18	0.768	0.768	0.773	0.623	0.535
	Pop2	0.697	0.646	0.712	0.589	0.466
	Pop4	0.751	0.726	0.736	0.637	0.502
	Pop5	0.706	0.702	0.712	0.628	0.511
	Pop6	0.702	0.695	0.713	0.581	0.576
	Pop7	0.702	0.679	0.705	0.539	0.546
	Pop8	0.796	0.799	0.788	0.733	0.605

Табл. 2. − Попарные значения дистанций Нея между популяциями *T. suaveolens*

		A			*B*	*C*
		Pop9	*Pop10*	*Pop11*	*Pop12*	*Pop3*
A	*Pop9*	-	-	-	-	-
	Pop10	0.079	-	-	-	-
	Pop11	0.118	0.139	-	-	-
B	*Pop12*	0.417	0.416	0.493	-	-
C	*Pop3*	0.269	0.224	0.230	0.337	-
D	*Pop1*	0.379	0.378	0.383	0.293	0.251
	Pop13	0.327	0.339	0.350	0.251	0.192
	Pop14	0.392	0.399	0.423	0.235	0.210
	Pop15	0.418	0.396	0.433	0.259	0.272
	Pop16	0.487	0.525	0.503	0.296	0.245
	Pop17	0.380	0.392	0.404	0.296	0.228
	Pop18	0.468	0.479	0.494	0.297	0.220
	Pop2	0.350	0.264	0.387	0.296	0.179
	Pop4	0.430	0.383	0.410	0.288	0.213
	Pop5	0.326	0.322	0.332	0.290	0.193
	Pop6	0.347	0.363	0.375	0.290	0.251
	Pop7	0.395	0.390	0.411	0.259	0.273
	Pop8	0.413	0.371	0.402	0.357	0.203

группу с апостериорными вероятностями отнесения большинства образцов к этой группе выше 95%. Образцы из популяций *3* и *12* также выделились в самостоятельные группы, но с более низкими (69−95%) значениями апостериорных вероятностей. Четвертая группа состоит из образцов, относящихся к разным популяциям и с преимущественно низкими значениями апостериорных вероятностей отнесения отдельных особей к той или иной группе.

Анализ главных компонент так же позволил выделить четыре группы популяций: группа «*A*» включает популяции *9−11* (Каменный Сырт); группа «*B*» состоит из одной популяции *12* (Общий Сырт); группа «*C*», так же состоит только из одной популяции *3* (восточный склон Приволжской возвышенности); группа «*D*» включает в себя оставшиеся *13* популяций (*1−2*, *4−8*, *13−18*). Разделение на группы полностью дублирует результаты кластеризации в STRUCTURE.

Такое разделение согласуется с попарным анализом дифференциации по *PhiPT* (табл. 1) и анализом генетических расстояний Нея (табл. 2), из которых видно, что группы популяций «*A*», «*B*» и «*C*» значительно отличаются как от большой группы «*D*», так и друг от друга. Однако, несмотря на достаточно хорошую генетическую дифференциацию группы

«*C*» (*Pop3*), попарные значения *PhiPT* и дистанций Нея между ней и самой большой группой «*D*» ниже, чем между группами «*A*», «*B*» и «*D*». Более того, популяция находится на западном краю исследуемой области и обладает как относительно высокими значениями полиморфизма внутри популяции, так и относительно высокой степенью ожидаемой гетерозиготности (табл. 3). При этом доля полиморфизма и значения ожидаемой гетерозиготности правобережных популяций имеет промежуточные значения, что свидетельствуют в пользу того, что эти популяции не изолированы от левобережных (табл. 3). Тем не менее, наблюдается некоторый градиент генетического полиморфизма популяций с востока на запад. Так, восточные популяции в среднем имеют более высокий генетический полиморфизм. Восточная популяция группы *B* (*Pop12*), которая имеет высокие значения генетической дифференциации (табл. 1, 2) по сравнению с другими группами, однако, обладает низким значением полиморфизма и степенью ожидаемой гетерозиготности внутри популяции. Тест Мантеля показал отсутствие корреляции между матрицей попарных значений F_{ST} и матрицей попарных географических расстояний между популяции-ями, результаты статистически недостоверны (r = -0.118; p = 0.819).

Табл. 3 − Значения полиморфизма (%*P*) и ожидаемой гетерозиготности (*He*) для исследуемых популяций

ПП	%*P*	*He*	ЗЛП	%*P*	*He*	ВЛП	%*P*	*He*
Pop1	40%	0.127	*Pop5*	38%	0.127	*Pop13*	56%	0.204
Pop2	42%	0.148	*Pop6*	48%	0.158	*Pop14*	46%	0.144
Pop3	40%	0.148	*Pop7*	64%	0.198	*Pop15*	40%	0.145
Pop4	40%	0.129	*Pop8*	28%	0.099	*Pop16*	56%	0.161
			Pop18	44%	0.134	*Pop17*	56%	0.182
Среднее	40.50%	0.138		44.40%	0.143		50.80%	0.167

Примечание: ПП – группа правобережных популяций (*Pop 1−4*), ЗЛП – группа западных левобережных популяций (*Pop 5−8* и *Pop 18*), ВЛП – группа восточных левобережных популяций (*Pop 13−17*).

То есть, все низковариабельные по ISSR-маркерам и наиболее дифференцированные друг от друга и от прочих популяций *T. suaveolens* локальные популяции расположены на возвышенностях, превышающих 50 м н.у.м. Высоковариабельные локальные популяции занимают территории в понижениях рельефа (от −9 до 26 м н.у.м.), совпадающие с очертаниями границ Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря в позднем плейстоцене.

В четвертом разделе отобранные популяции сравниваются между собой и с популяциями из других регионов, не попавших в предыдущие выборки, в результате чего обеспечивается охват всей европейской части ареала вида.

В результате ISSR-анализа *T. suaveolens* выявлен достаточно четкий филогеографический паттерн, разделяющий исследованные популяции на

две основные группы. Популяции, представляющие первую генетическую группу, располагаются преимущественно на высотах выше 50 м н.у.м. (Горный Крым, Северо-Западный и Северный Кавказ, Медведицкие Яры, Калачская, Ергенинская и Приволжская возвышенности, Донецкий Кряж, Общий и Каменный Сырт, холм Большое Богдо). Популяции, составляющие вторую генетическую группу, занимают территории в понижениях рельефа от −9 до 26 м н.у.м., совпадающих с очертаниями границ Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря, включая Кумо-Манычский перешеек. При этом первая генетическая группа в результате анализа методом Байеса в программе NEW HYBRIDS выделена как объединение двух родительских прапопуляций (А − Горный Крым, Северо-Западный и Северный Кавказ, Ергенинская возвышенность, Общий Сырт; В − Медведицкие Яры, Калачская и восточный склон Приволжской возвышенности, Донецкий Кряж, Каменный Сырт, холм Большое Богдо), вторая – продуктов скрещивания между ними (рис. 2).

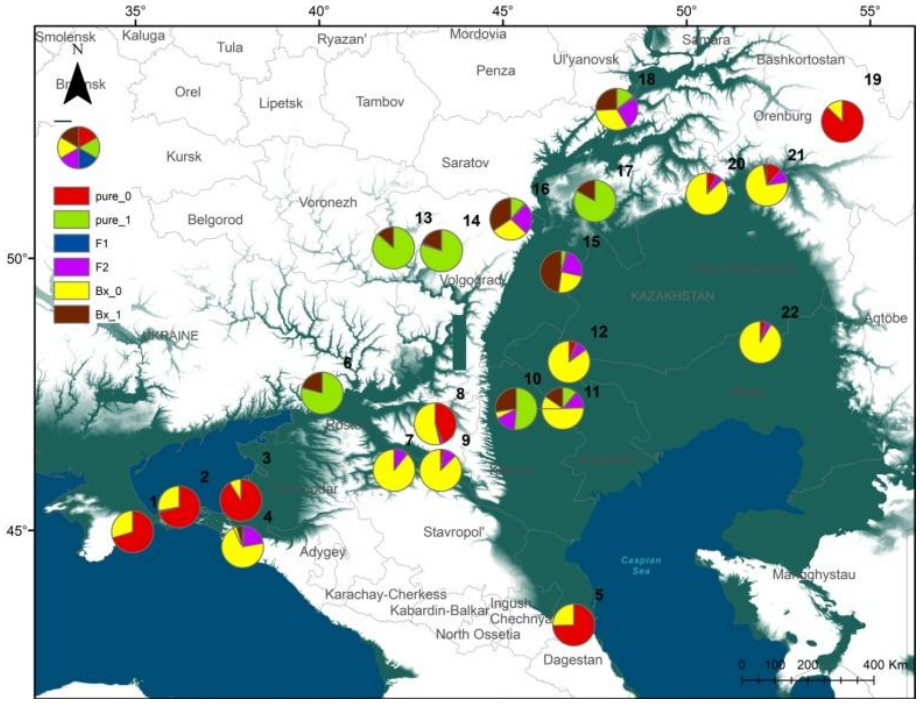


Рис. 2 − Результаты байесовского анализа *T. suaveolens* в программе NEW HYBRIDS: Зеленым цветом выделена территория максимального затопления Каспийским морем при Раннехвалынской трансгрессии (50 м абс. (Свиточ, 2015) над современным уровнем Мирового океана). *Pure_0 1* – прапопуляция А; *Pure_1* – прапопуляция В; *F1* – гибриды первого поколения; *F2* – гибриды второго поколения; *Bx_0* – бэккроссы к прапопуляции А; *Bx_1* − бэккроссы к прапопуляции В

То есть группы «*A*», «*B*», «*C*», «*D*», выявленные в Саратовской области (рис. 1), соответствуют прапопуляции В (Каменный Сырт), прапопуляции А (Общий Сырт), гибридам F2 и BCB1 (Приволжская возвышенность) и бэккроссам BCA1 (остальные популяции).

В следующем разделе проведена оценка внутривидового генетического полиморфизма *T. suaveolens* в пределах европейской части ареала (65 природных популяций) и родственных отношений между ним и культурными сортами *T.* × *gesneriana* с использованием последовательностей ITS (спейсеры ITS1-5.8S-ITS2 рДНК) и хлДНК (*ndhC−trnV, ndhF, petA−psbJ, psbE−petL, rpl32−trnL, rps16−trnQ, trnT−psbD, trnC−petN, trnL–trnF, rpl16, rps12–rpl20, matK*). Мы обнаружили вариабельность лишь в спейсерах *psb*E−*pet*L и ITS1-5.8S-ITS2, которые были взяты для окончательного анализа. Матрицы выравниваний включали 211 и 229 образцов *T. suaveolens* соответственно, 8 сортообразцов *T.* × *gesneriana* и 5 образцов внешних групп (*T. borszczowii, T. julia, T. lehmanniana, T. ulophylla, T. vvedenskyi*).

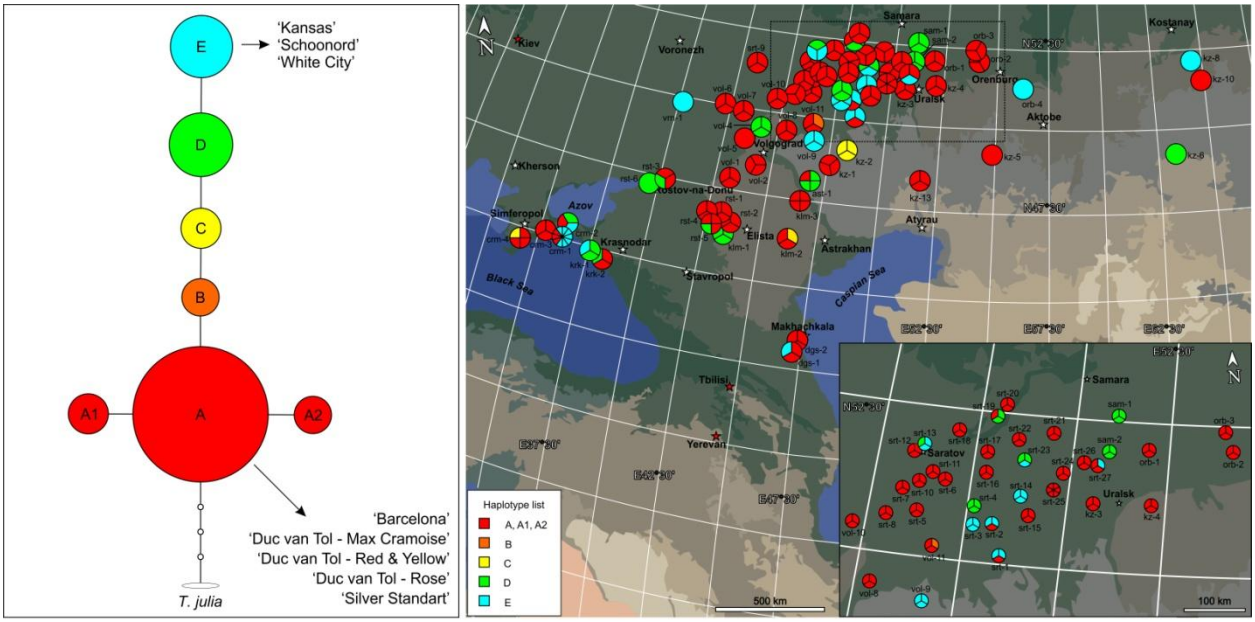
В результате анализа методом статистической парсимонии последовательности *T. suaveolens* и *T.* × *gesneriana* были объединены в 7 гаплотипов хлДНК и 8 риботипов ITS (рис. 3, 4). Пространственные паттерны выявленных гапло- и риботипов, в целом, совпадают с пространственной структурой генетического полиморфизма, установленной в результате ISSR-анализа, и коррелируют с очертаниями границ Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря. Анализ молекулярного датирования показал, что дивергенция *T. suaveolens* с филогенетически ближайшим к нему *T. ulophilla* (узколокальный эндемик Ирана) произошла в интервале от 2.72 до 0.92 млн. лет назад, дивергенция риботипов внутри вида − 1.6−0.25 млн. лет назад, т.е. значительно ранее позднего плейстоцена.

Таким образом, во время LGM возникшие ранее эволюционные линии, соответствующие родительским прапопуляциям *T. suaveolens*, могли сохраниться изолированно друг от друга в отдельных степных рефугиумах. Для одной прапопуляции такими рефугиумами, по-видимому, стали Крым, Кавказ, Ергенинская возвышенность и Общий Сырт, для второй − Калачская возвышенность, Медведицкие Яры, Донецкий кряж и холм Большое Богдо. Контакт между этими группами возобновился в ходе Енотаевской регрессии Каспия (~ 22−11 тыс. лет назад) по мере отступления ледника. Расселение, судя по всему, шло с различных сторон незатапливаемой части ареала.

Гаплотипы хлДНК и риботипы ITS культурных сортов *T.* × *gesneriana* ранней селекции оказались идентичны таковым *T. suaveolens* (рис. 3а, 4а). Исследования изменчивости морфологических признаков в естественных популяциях *T. suaveolens* показали, что такие параметры, как высота растения, диаметр растения, ширина листьев, ширина листочка околоцветника являются высоко вариабельными для данного вида и зависимыми от условий местообитания.

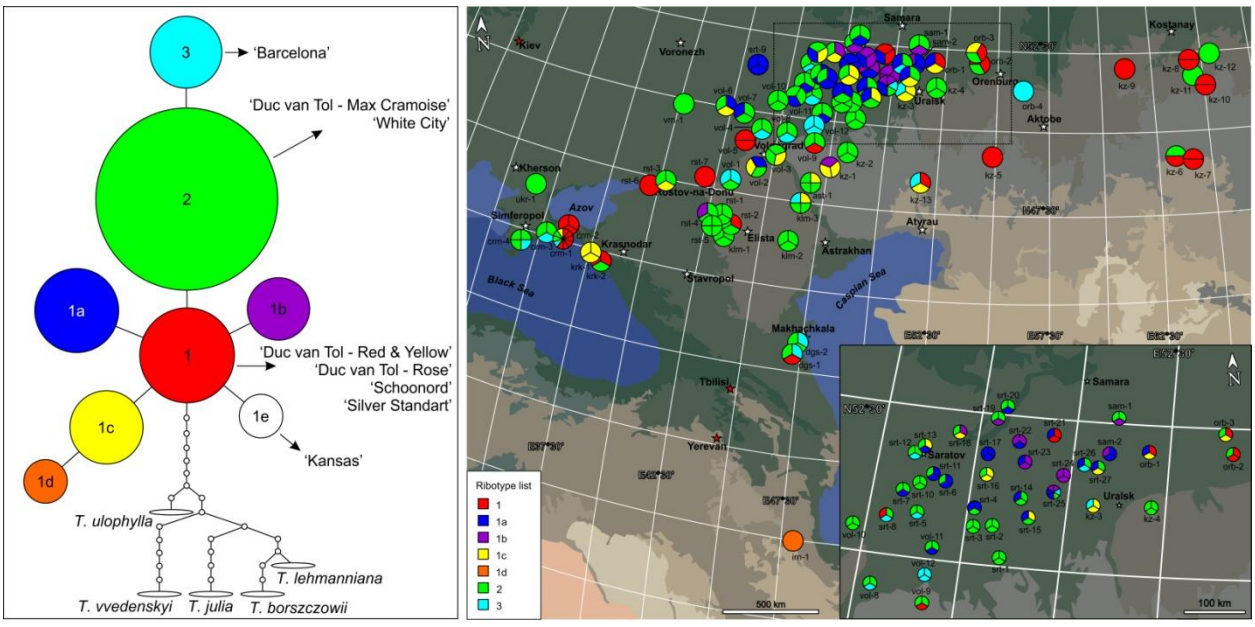
В природных популяциях *T. suaveolens* отмечен широчайший спектр окраски листочков околоцветника и форм цветка, обнаруживаются махровые, пестрые, с зубчатым краем лепестка образцы, т.е. фактически все варианты признаков, в направлении которых шла селекция культурных тюльпанов. Нами показано, что культурный *T. gesneriana* был описан Карлом Линнеем по образцам, по крайней мере, близким к *T. suaveolens*, как

например сорт ‘Silver Standart’ (1760), имеющий пестрые цветки и голые цветоножки, и обладает гаплотипом A хлДНК и ITS-риботипом 1, самыми распространенными у *T. suaveolens* на изученной территории.



а ***б***

Рис. 3 – Сеть гаплотипов хлДНК *T. suaveolens*, построенная методом статистической парсимонии, (***а***) и географическое распределение (***б***) выявленных гаплотипов. Стрелки показывают положение сортов *T.* × *gesneriana* в сети. Каждая круговая диаграмма на карте представляет собой популяцию, каждый сектор – особь. Здесь и далее: уровень достоверности 95%; линии представляют собой мутационный путь, соединяющий гаплотипы; точки представляют предполагаемые промежуточные гаплотипы, отсутствующие в данных



а ***б***

Рис. 4 – Сеть риботипов ITS *T. suaveolens*, построенная методом статистической парсимонии, (***а***) и географическое распределение (***б***) выявленных риботипов. Стрелки показывают положение сортов *T.* × *gesneriana* в сети. Каждая круговая диаграмма на карте представляет собой популяцию, каждый сектор – особь

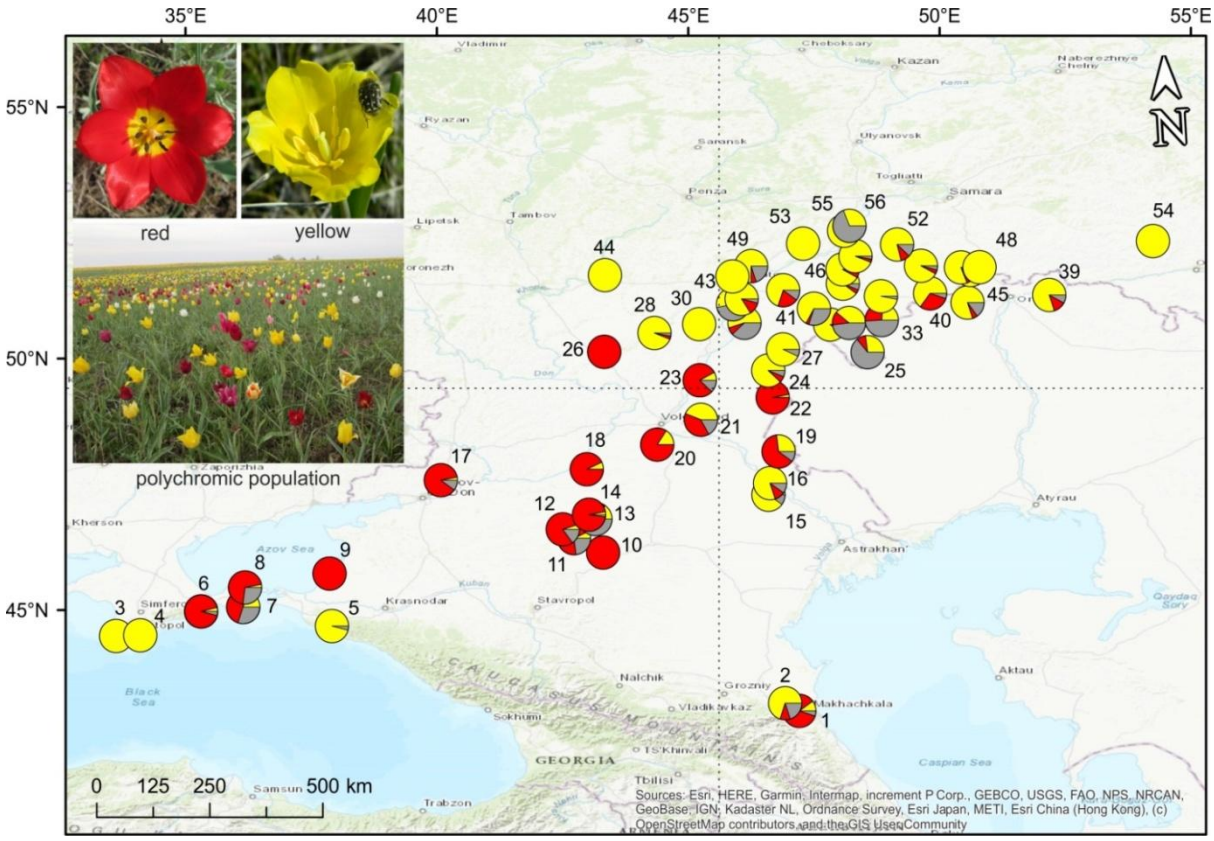


Рис. 5 − Красная, желтая и другие варианты окраски околоцветника *T. suaveolens* и их доли в изученных популяциях. Категория «другие» (белая, оранжевая, фиолетовая и различные варианты неоднородной окраски) выделена серым цветом

Морфологическая изменчивость линейных параметров *T. suaveolens* отражает широтный градиент от популяций с крупными цветками и широкими, длинными, широко расставленными листьями к популяциям с мелкими цветками и узкими прижатыми к стеблю листьями (горизонтальные признаки и цветок). Из факторов окружающей среды с наблюдаемым паттерном изменчивости оказались связаны среднегодовая температура (включая зимние месяцы) и количество осадков.

На равнинной части ареала у *T. suaveolens* выявлен градиент, в соответствии с которым в направлении с северо-востока на юго-запад в популяциях увеличивается доля красноцветковых особей и интенсивность красной хроматической составляющей (рис. 5). В качестве наиболее вероятных факторов отбора, определяющих пространственный паттерн окраски околоцветника *T. suaveolens*, выступают исторически сложившиеся условия температуры и влажности, т. е. абиотические факторы. Этот градиент нельзя объяснить изменениями в фауне опылителей или их цветовыми предпочтениями, поскольку на исследованной части ареала тюльпаны опыляются одними и теми же насекомыми (Петрова и др., 2019).

Пространственные паттерны морфологической изменчивости линейных параметров и окраски околоцветника *T. suaveolens* не коррелируют с выявленными генетическими группами.

Глава 5. Биогеографические и филогенетические закономерности изменчивости популяций *Fritillaria* юга европейской России

5.1 Филогеографический анализ *Fritillaria meleagroides* и связь с эндемичными видами *Fritillaria* Северного Кавказа

Fritillaria meleagroides – луковичный травянистый многолетник, весенний эфемероид-геофит. Произрастает на солонцеватых лугах в долинах рек, на лиманах. Ареал охватывает Восточную Европу, Среднюю Азию (Северный Казахстан), северо-запад Китая (Синьцзян). Основная часть ареала находится в России: в Центрально-Чернозёмном районе, на Нижнем Дону, Нижней Волге, в Калмыкии, на Урале, юге Западной Сибири (Артюшенко, 1979; Мордак, 2006). Включён в Красные книги фактически всех регионов, в которых произрастает.

Доля замен на общую длину выравнивания хлДНК в 5960 п.н. составила менее 0.2%. В результате анализа хлДНК выявлено, что *F. meleagroides* и кавказские эндемичные виды *Fritillaria* (*F. armena*, *F. kurdica*, *F. latifolia*, *F. orientalis* и *F. pinardii*) произошли от одного общего предка, по-видимому, произраставшего на Кавказе или Предкавказье. Наиболее эволюционно близким таксоном для *F. meleagroides* является *F. orientalis* – эндемик Кавказа. Время дивергенции эволюционной ветви *F. meleagroides* оценивается в ~ 5.1 млн. лет, что соответствует диапазону от позднего миоцена до среднего плиоцена (Li et al., 2022). Поэтому с одной стороны, этот предок мог возникнуть непосредственно на Кавказе или Предкавказье, где в эти эпохи складывались благоприятные условия для видообразования, и куда его предковые формы могли мигрировать из Средней Азии в середине плиоцена (Иванов, 1998; Kim et al., 2018). С другой стороны, он мог возникнуть в Средиземноморье и трансформироваться по мере продвижения на восток в процессе миграции средиземноморской флоры на Кавказ (Иванов, 1998; Day et al., 2014).

По данным ISSR анализа большинство популяций *F. meleagroides* в пределах европейской части России характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия. Низкое значение индекса фиксации (0.142) указывает на панмиксию и отсутствие барьеров для потока генов. Тест Мантеля показал отсутствие корреляции между матрицей попарных значений F_{ST} и матрицей попарных географических расстояний между популяциями, результаты статистически недостоверны ($r = 0.297$; $p = 0.089$). Мономорфность отдельных популяций может быть связана с их более поздним возникновением в результате единичного заноса диаспор в подходящие незанятые местообитания. В таких случаях генетическая структура новых популяций оказывается сильно обедненной за счет эффекта основателя. Популяции с низким уровнем генетического полиморфизма приурочены к понижениям рельефа ниже ≤ 50 м н.у.м., коррелирующим с границами затопления этой территории Раннехвалынской трансгрессией Каспийского моря (рис. 6).

Географический характер морфологической изменчивости сходен с таковым у *T. suaveolens*, т.е. отражает широтный градиент от популяций с крупными цветками и широкими, длинными листьями к популяциям

с мелкими цветками и узкими листьями. В обоих случаях за обособление южных популяций в большей мере отвечают температурные факторы не только периода вегетации, но и всего года, включая зимние месяцы. Но, в отличие от тюльпана, у *F. meleagroides* не выявлено связи морфологических параметров с количеством осадков, что вполне ожидаемо для лугового вида, местообитания которого сами по себе характеризуются условиями достаточного или избыточного увлажнения.

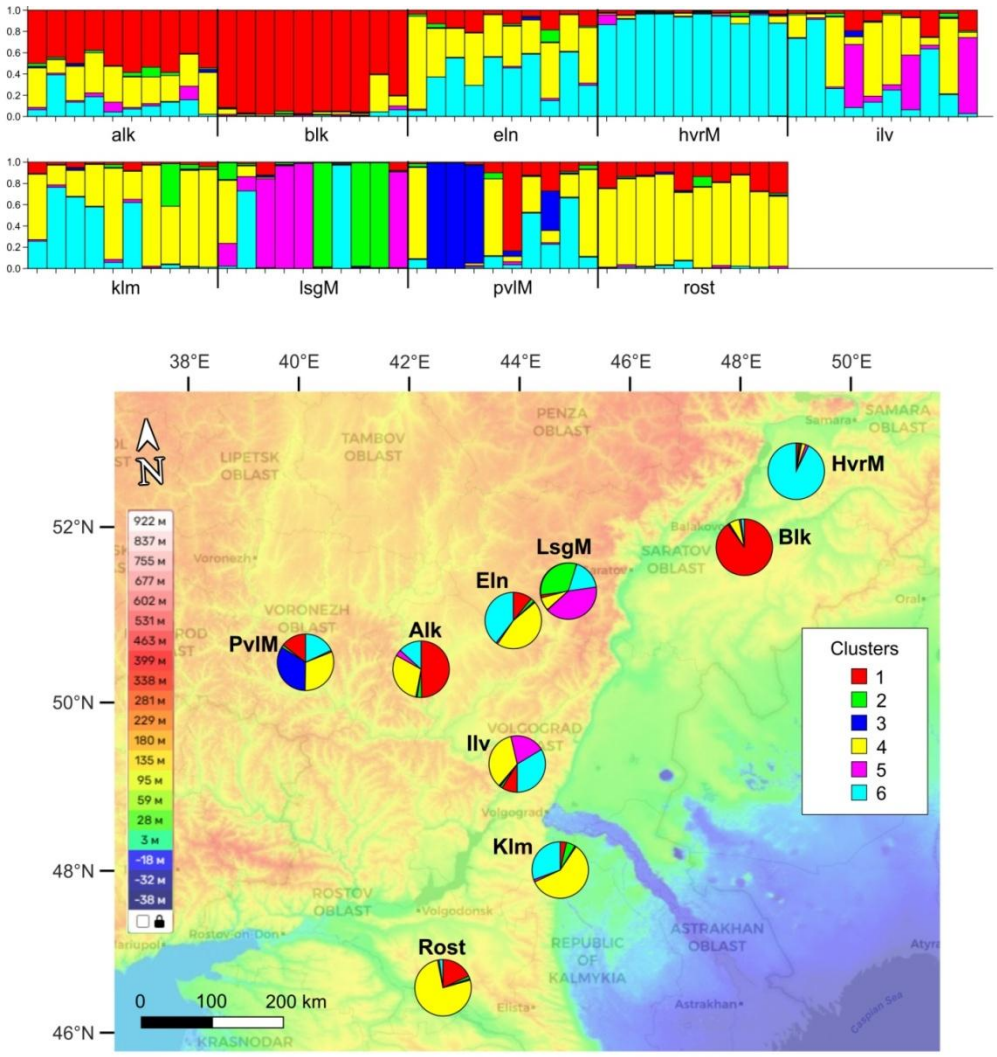


Рис. 6 − Результаты байесовского анализа образцов *F. meleagroides* в программе STRUCTURE. Столбчатая диаграмма: вероятность отнесения 90 исследованных образцов к одной из групп по составу ISSR маркеров для $K = 6$ (по горизонтальной оси – номера популяций, по вертикальной – апостериорная вероятность). Географическая карта: соотношение шести генетических групп в отдельных локальных популяциях. Шкала – высота над уровнем моря. *1−6* – генетические группы

Корреляции наблюдаемого паттерна морфологической изменчивости с генетическими группами, выявленными на основании результатов секвенирования и ISSR-маркирования, не выявлено.

5.2 Оценка генетического и морфологического разнообразия популяций *Fritillaria ruthenica* юго-востока России

Fritillaria ruthenica – луковичный травянистый многолетник, весенний эфемероид-геофит. Редкий вид, внесён в Красную книгу РФ (Силаева, 2008) и Красные книги всех регионов, в которых произрастает. Восточноевропейско-среднеазиатский вид, эндемик флоры РФ. Европейская часть ареала охватывает степные и лесостепные районы от Украины на западе до Заволжья и Нижней Волги на востоке, вид также встречается в Предкавказье. Азиатская часть локализована в Западной Сибири и Средней Азии.

В результате анализа хлДНК выявлено, что *F. ruthenica*, как и *F. meleagroides*, произошел от общей предковой формы, по-видимому, произраставшей на Кавказе или Предкавказье. Но, в отличие от *F. meleagroides*, для *F. ruthenica* именно этот регион и указывался флористами в качестве предполагаемого предкового ареала (Артюшенко, 1979; Мордак, 2006). Наиболее эволюционно близкими таксонами для *F. ruthenica* являются *F. meleagris* и *F. usuriensis*.

По данным ядерной ДНК выявлено три риботипа (рис. 7), один из которых встречается только на восточных склонах Приволжской возвышенности и отрогах Каменного Сырта, т. е. приурочен к элементам рельефа выше 50 м н.у.м. На этих же возвышенностях располагаются точки с прапопуляцией В *Tulipa suaveolens*, что свидетельствует в пользу существования общих ледниковых и межледниковых рефугиумов для этих двух видов.

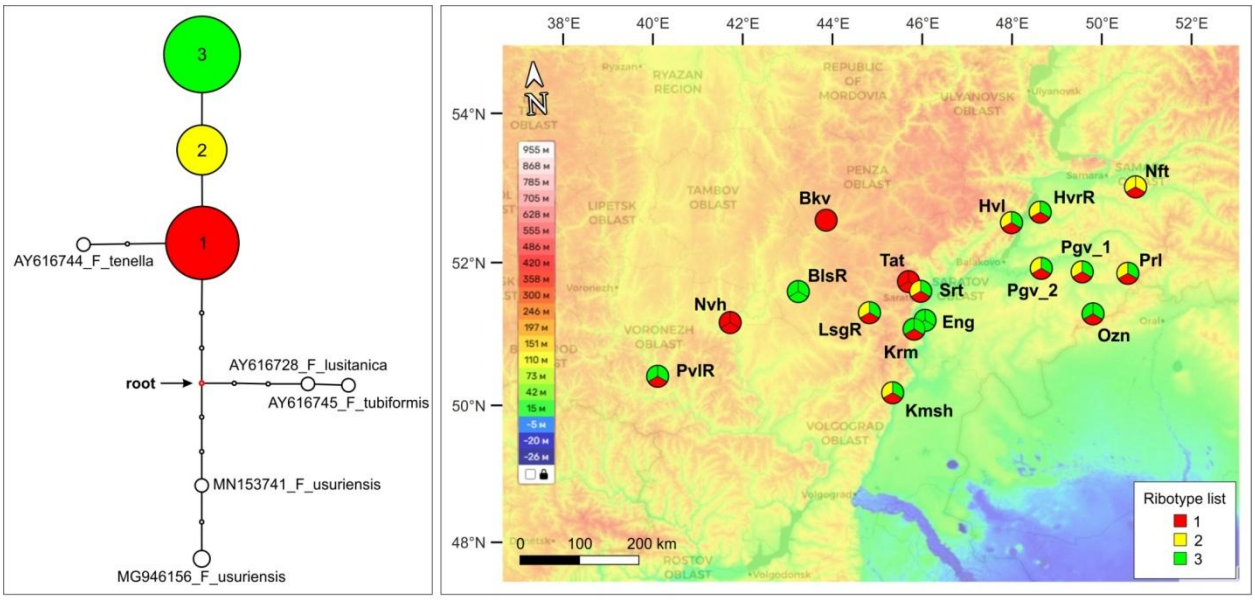


Рис. 7 − Результаты филогеографической реконструкции риботипов *F. ruthenica*: *а* − эволюционная сеть, построенная методом статистической парсимонии; *б* − географическое распределение риботипов на территории исследования. Шкала – высота над уровнем моря

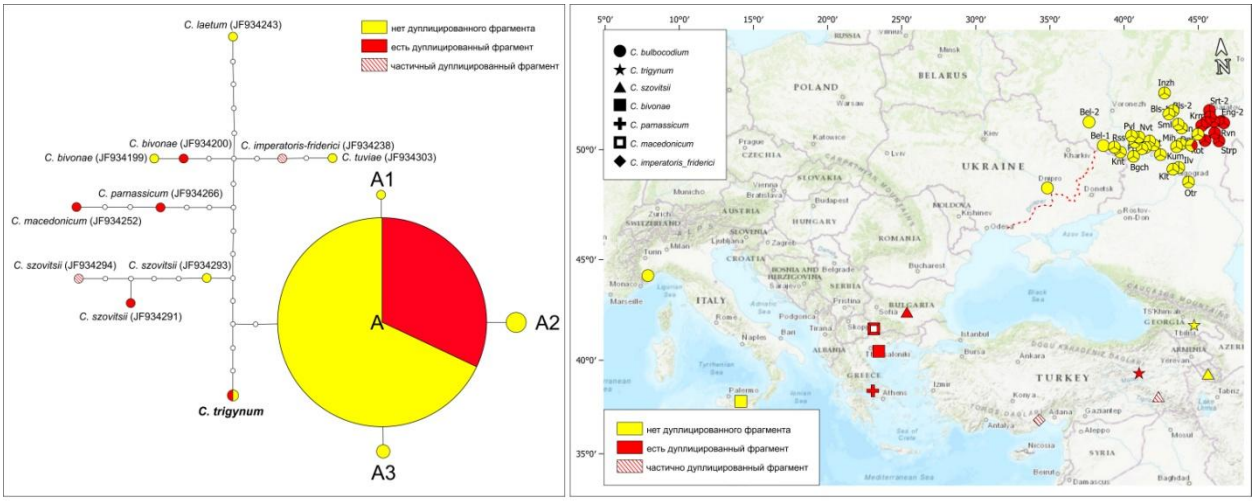
Установлена связь морфологических параметров *F. ruthenica* (длина и ширина листа) с переменными увлажнения и суточного перепада температур. То есть в более влажных местообитаниях с меньшей амплитудой температур, таких как опушки леса, растения были крупнее, чем на открытых местообитаниях, таких как остепненные луга и склоны.

Корреляции наблюдаемого паттерна морфологической изменчивости с генетическими группами, выявленными на основании результатов секвенирования ДНК, не выявлено.

Глава 6. Генетическая дифференциация популяций *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* европейской части России

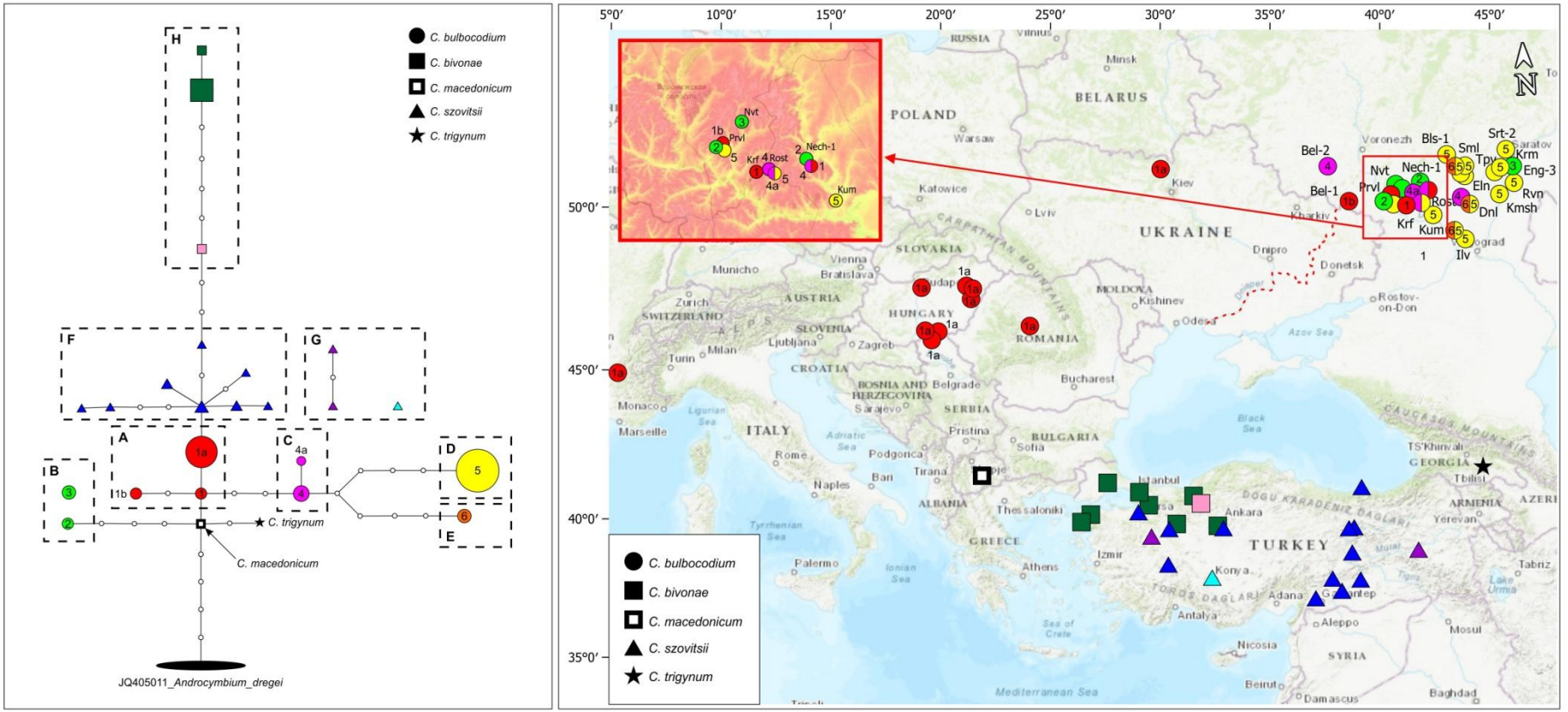
Colchicum bulbocodium subsp. *versicolor* (Colchicaceae) считается реликтом послеледникового времени средиземноморского происхождения с дизъюнктивным ареалом (Салагаев, Шанцер, 2006). Встречается в Молдавии, Венгрии, Италии, Сербии, на Северном Кавказе, в Румынии, Украине и на юго-востоке Европейской России, включен в Красную книгу РФ (Цвелев, 2008).

По данным хлДНК наиболее информативными оказались последовательности гена *rp*S16. У части исследованных нами образцов выявлен дуплицированный фрагмент размером 19 п.н., обнаруженный также и у ряда других видов *Colchicum* (*C. bivonae*, *C. macedonicum*, *C. parnassicum*, *C. szovitsii*, *C. trigynum*) Балканского полуострова и Восточного Средиземноморья. Если нанести полученные результаты на географическую карту, то популяции, содержащие дупликацию в гене *rp*S16, образуют четкий паттерн на восточной границе ареала (рис. 8). При этом они располагаются как на левом, так и на правом берегу р. Волга, из чего можно сделать вывод о том, что река не является географическим барьером для потока генов.



а *б*

Рис. 8 – Сеть гаплотипов хлДНК *C. bulbocodium* и внешних групп, построенная методом статистической парсимонии, (***а***) и географическое распределение (***б***) выявленных гаплотипов. Каждая круговая диаграмма на карте представляет собой популяцию, каждый сектор – особь



а *б*

Рис. 9 − Сеть риботипов ITS1 *C. bulbocodium* и внешних групп, построенная методом статистической парсимонии, (***а***) и географическое распределение (***б***) выявленных риботипов. Каждая геометрическая фигура на карте представляет собой особь. Территория Калачской возвышенности выделена прямоугольником

Результаты анализа риботипов ITS1 *C. bulbocodium* методом статистической парсимонии представлены на рис. 9. Семь из девяти выявленных риботипов *C. bulbocodium*, включая корневой риботип 1 и группу риботипов B, сосредоточены на Калачской возвышенности, располагающейся в левобережье Дона, между реками Битюг и Хопер, в пределах Воронежской, Волгоградской, Ростовской областей, и представляющей собой юго-восточные отроги Среднерусской возвышенности (рис. 9). Три риботипа (1, 2, 4a) эндемичны для данной территории. Другие три риботипа (1b, 4, 6) обнаружены только на Калачской возвышенности и прилегающих к ней территориях Белгородской, Волгоградской и Саратовской областей (рис. 9). Риботип 1a не обнаружен на Восточно-Европейской равнине, но присутствует у всех западноевропейских образцов *C. bulbocodium* (AJ876741− AJ876750) и *C. vernum* (AJ876738), загруженных из GenBank.

В результате обобщения результатов анализа последовательностей хлДНК и рДНК *C. bulbocodium* выявлен четкий филогеографический паттерн, разделяющий исследованные популяции на три группы. Первую группу составили высокополиморфные по ITS маркерам популяции, располагающиеся на территории Калачской возвышенности. Вторая группа мономорфна по всем типам маркеров и объединяет образцы *C. bulbocodium* из Западной Европы (от Франции до Западной Украины) и *C. vernum*. В третью группу вошли популяции, располагающиеся на восточных склонах Приволжской возвышенности и территории Саратовского Заволжья, отличающиеся от первых двух групп наличием дуплицированного фрагмента в гене *rpS*16 хлДНК. Учитывая то, что в Заволжье все популяции располагаются на территории, затапливавшейся Раннехвалынской трансгрессией Каспийского моря во время LGM, есть основания полагать, что их расселение происходило позже со стороны популяций Приволжской возвышенности.

Анализ молекулярного датирования показал, что расхождение риботипов *C. bulbocodium* произошло ~ 3.95 млн. лет назад, что соответствует середине плиоцена, характеризующейся аридизацией климата в Европе и стремительным вытеснением лесных экосистем степными ландшафтами. Рассчитанное нами время дивергенции риботипов ITS согласуется с данными, полученными A. Hoyo с соавторами (2009) на основание секвенирования хлДНК и соответствует третьей волне экспансии предковых форм *Colchicum* s. l. в сторону средиземноморского бассейна на восток и на север (~ 4 млн. лет назад). Предположительно именно в это время формировался очаг многообразия диплоидных синантных видов рода (включая *Bulbocodium* и *Merendera*) на Армянском нагорье (Оганезова, 2019). По-видимому, общий предок *C. bulbocodium, C. macedonicum* и *C. tryginum* возник в Анатолии и содержал дуплицированный фрагмент в гене *rpS*16 хлДНК. В результате экспансии предковой формы на освобождающиеся от лесных формаций территории происходила его трансформация и

дивергенция на отдельные эволюционные линии, которые в дальнейшем развивались параллельно. Так, в популяциях *C. szovitsii* наблюдается постепенная «потеря» этого фрагмента в направлении от Балканского полуострова на юго-восток: Болгария – 19 п.н., Турция – 5 п.н., Азербайджан – фрагмент отсутствует.

Расселение *C. bulbocodium* по территории Восточно-Европейской равнины могло идти как со стороны Балканского полуострова, так и со стороны Кавказа и Предкавказья, где в результате ритмики ледниковых и межледниковых эпох происходили периодические смещения вертикальных поясов и миграция ксерофильных элементов на предгорья. Сконцентрированность большого количества уникальных риботипов ITS плиоценового времени на территории Калачской возвышенности свидетельствует в пользу существования степного рефугиума в этом месте на протяжении всего позднего плейстоцена и голоцена.

Отсутствие на Восточно-Европейской равнине риботипа, доминирующего в Западной Европе, указывает на его сохранение и дальнейшее расселения из другого степного рефугиума. В качестве последнего с большой долей вероятности может выступать Трансильванский бассейн, не покрывавшийся ледниковым щитом в эпоху LGM, где сохранились уникальные генотипы *Adonis volgensis* (Kajtoch et al., 2016) и *A. vernalis* (Kropf et al., 2019) – степных видов, произрастающих в одних растительных сообществах с *C. bulbocodium* (Shilova et al., 2023). Генетическую мономорфность западноевропейских популяций *C. bulbocodium* в отсутствие четких географических разрывов с полиморфными восточноевропейскими можно объяснить эффектом дрейфа генов (т.е. случайным изменением частоты аллелей в популяции) либо эффектом основателя (т.е. созданием местных популяций ограниченным числом генетически близких особей).

Эффектом основателя можно объяснить и доминирование гаплотипа, содержащего дуплицированный фрагмент в гене *rpS*16 хлДНК, на восточных склонах Приволжской возвышенности и в Заволжье. Наличие общего риботипа 3 у популяций Калачской возвышенности и Энгельсского района Саратовской области, которые произрастают на разных берегах Волги и удалены друг от друга на расстояние более 350 км, указывает на существование непрерывного ареала в прошлом. Учитывая то, что в Заволжье все популяции располагаются на территории, затапливаемой Раннехвалынской трансгрессией Каспийского моря во время LGM, есть основания полагать, что их расселение происходило позже со стороны популяций Приволжской возвышенности. Из этого следует, что риботип 3 должен присутствовать и в популяциях Приволжской возвышенности, но, по-видимому, не попал в нашу выборку.

Дизъюнкция между популяциями Калачской и Приволжской возвышенностей, с одной стороны, может быть результатом замещения степных местообитаний тундровыми и лесными формациями в ледниковые и

плювиальные межледниковые эпохи соответственно, с другой стороны − может являться следствием распашки степей и хозяйственной деятельности человека. И в том, и в другом случае Калачскую и Приволжскую (восточные склоны) возвышенности следует рассматривать в качестве рефугиумов, существовавших на протяжении всего позднего плейстоцена и голоцена.

Установлена прямая связь вариабельности морфологических параметров *C. bulbocodium* с переменными увлажнения и суточного перепада температур. То есть в более влажных местообитаниях с меньшей амплитудой температур признаки были стабильнее. Пространственные паттерны морфологической изменчивости линейных параметров *C. bulbocodium* не коррелируют с выявленными генетическими группами.

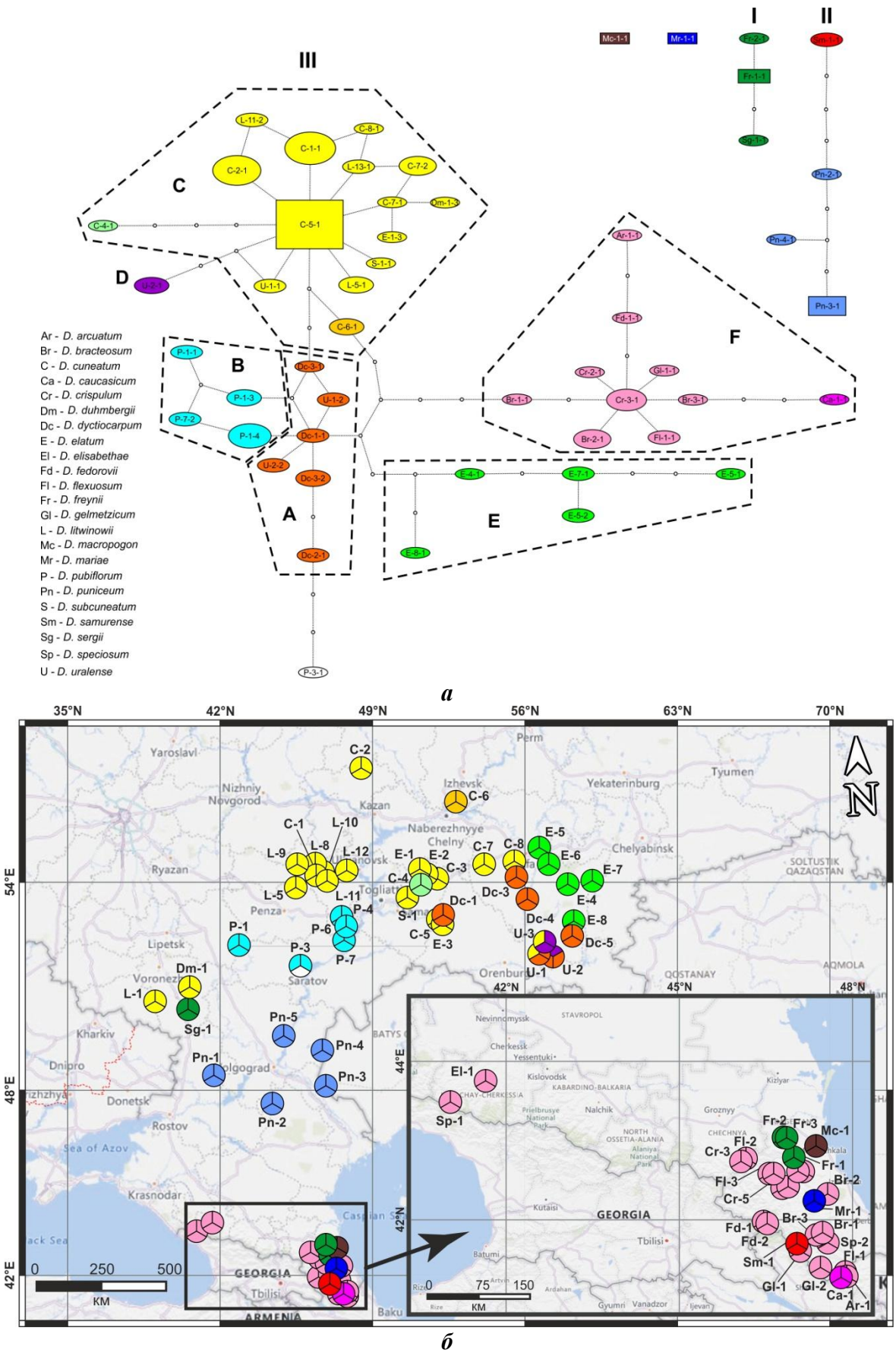
Глава 7. Филогеографический анализ таксонов рода *Delphinium* юго-востока России

Нами исследовано 79 локальных популяций 23 таксонов рода *Delphinium* Северного Кавказа и юго-востока Европейской России (рис. 10). Особый интерес вызывает живокость пунцовая (*D. puniceum*) – редкий вид, ареал которого в геоботаническом отношении совпадает с азово-каспийским массивом плакорных южных и опустыненных степей (Куваев, 2008). В качестве рабочей гипотезы перечисленные таксоны понимались нами в трактовке, предлагаемой Н. Н. Цвелёвым (2001).

Секвенирование десяти маркеров хлДНК оказалось мало-информативным: перечисленные фрагменты содержали единичные замены либо не содержали замен совсем. Спейсер ITS1 рДНК содержал протяженную делецию, которая препятствовала отжигу праймеров, поэтому для работы с этими видами использовали только область ITS2.

Выявлено три эволюционные сети и два обособленных минорных риботипа *D. mariae* и *D. macropogon* (рис. 10а). Первую сеть (I) составили образцы *D. freynii* и *D. sergii*, вторую (II) − *D. puniceum* и *D. samurense*, третью (III) – все остальные образцы, не вошедшие в первые две сети и отдельные минорные риботипы. Эволюционные сети соответствуют кладам первого уровня, выявленным в результате байесовского анализа. В пределах третьей (III), самой крупной, сети выделено пять групп риботипов, соответствующих кладам 2-го и 3-го уровней, выявленных в результате байесовского анализа. Центральную группу A составили, главным образом, образцы *D. dictyocarpum* и отдельные особи из популяций *D. uralense*.

Ближайшую производную от нее группу B образовали образцы *D. pubiflorum*. Вторую производную от центральной и самую многочисленную группу C составили образцы *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii*, *D. litwinowii*, *D. elatum* европейской части России и отдельные особи из популяций *D. uralense*, никак не разделяющиеся между собой. От этой группы двумя мутациями отделен один уникальный риботип *D. uralense* (D). В третью производную от центральной группу E вошли только образцы уральских популяций *D. elatum*. Четвертая производная от центральной группа F объединила таксоны Северного Кавказа.



а

б

Рис. 10 − Сети риботипов ITS2 таксонов *Delphinium* юго-востока России, построенные методом статистической парсимонии (*а*), и географическое распределение выделенных групп риботипов (*б*)

Объединение риботипов *D. puniceum* в одну сеть с *D. samurense* – эндемиком южного Дагестана (Murtazaliev, Luferov, 2021) – может указывать на их происхождение от общей предковой формы, возникшей, по-видимому, на Кавказе. Выявленные группы имеют четкий пространственный паттерн (рис. 10б): группы A и E сосредоточены, главным образом, на территории Башкирского Предуралья; B – в Правобережье Саратовской и Ульяновской областей; группа C распространена более или менее равномерно по европейской части России от Воронежской области до Башкирского Предуралья. Тест Мантеля показал отсутствие корреляции между матрицей попарных значений F_{ST} и матрицей попарных географических расстояний между популяциями, результаты статистически недостоверны (r = 0.110; p = 0.069).

Наши данные позволили оценить возраст эволюционной ветви ***D. puniceum*** в ~ 0.60 млн. лет, что сопоставимо с предполагаемым преобладанием сухих степей в Западном Прикаспии (Янина, 2009) в Раннебакинское время (~ 700−500 тыс. лет назад). Время дивергенции риботипов ITS ~ 0.20 млн. лет назад, что сопоставимо с датировками середины Хазарского времени (Янина, 2009). По мнению ряда авторов (Милановский, 1966; Думитрашко и др., 1977; Алескеров, 1990) в Раннехазарское время (~ 300 тыс. лет) в высокогорной зоне Большого и Малого Кавказа существовали ледники, что могло привести к смещению вертикальных поясов растительности вниз и миграции ксерофитных элементов до предгорий.

Ксерофит *D. puniceum* мог дивергировать от общей с *D. samurense* предковой формы на территории Кавказа в Раннебакинское время в результате нарастающей аридизации климата. Последующее похолодание Раннехазарского времени, с одной стороны, могло привести к смещению вниз вертикальных поясов растительности в результате оледенения Кавказа и миграции вида на предгорья, с другой стороны, могло ограничивать его расселение вследствие развития лесной растительности на территории западного побережья Каспия. Дивергенция отдельных риботипов ~ 0.20 млн. лет назад свидетельствует в пользу адаптивной эволюции при переходе к Позднехазарскому времени (~ 140−85 тыс. лет) и экспансии вида на освобождающиеся от лесных формаций территории Прикаспия. Полученные нами результаты поддерживают мнение ряда авторов (Дорофеев, 1960; Яхимович и др., 1986; Янина, 2009) о широком распространении травянистой растительности с группировками ксерофильного разнотравья в Позднехазарское время и не поддерживают предположение о сохранении Ранеехазарского облика растительности с преобладанием лесных ценозов (Лавренко, 1956; Абрамова, 1974).

Во время последующих эпох похолодания и трансгрессий Каспийского моря популяции *D. puniceum* могли сохраниться в небольших, изолированных друг от друга, рефугиумах. Учитывая пространственный паттерн распределения ядерных риботипов *D. puniceum* и результаты,

полученные нами на других объектах, такими рефугиумами могли стать: 1) восточные склоны Приволжской возвышенности, в пределах которой отмечены уникальные генотипы *C. bulbocodium*, *F. ruthenica* и *T. suaveolens*; 2) возвышенность Ергени и подножия Общего Сырта, где встречается прапопуляция А *T. suaveolens*; 3) холм Большое Богдо, где встречается прапопуляция В *T. suaveolens*.

Дивергенция риботипов представителей *Delphinium* европейской части России из **секции *Delphinastrum***, по-видимому, произошла около ~ 80 тыс. лет назад, что поддерживает правомерность выделения Ательской эпохи Каспия, начало которой связывают с общим похолоданием и усилением континентальности климата (Ранневалдайское похолодание), а окончание – с потеплением (Внутривюрмское потепление), а также господством степных и в особенности лесостепных ландшафтов (Янина, 2009). Так как таксоны секции *Delphinastrum* занимают экотонные лесостепные сообщества логично предположить, что, по аналогии с результатами, полученными для *C. bulbocodium*, триггером для адаптивной эволюции послужило появление обширных незанятых или недостаточно занятых экологических ниш. Но, в отличие от *C. bulbocodium*, адаптивная радиация которой датируется около 4 млн. лет назад, у предствителей секции *Delphinastrum* европейской части России она произошла относительно недавно. По-видимому, видообразование внутри этой группы ещё не завершилось, поэтому они плохо разделяются молекулярно-генетическими методами. То же самое можно сказать и о группе риботипов таксонов ***Delphinium* Северного Кавказа**, время дивергенции которых датируется < 10 тыс. лет назад, то есть голоценом. Обе эти группы происходят от общей предковой формы, обитавшей в Средней или Центральной Азии (горы Памир и Тянь-Шань, Тибетское нагорье). В пользу этого предположения свидетельствует их объединение по результатам байесовского анализа в одну кладу с образцами *D. ceratophorum*, являющегося эндемиком Тибетского нагорья. В межледниковые эпохи предковые формы могли мигрировать на запад и северо-запад, трансформируясь и адаптируясь под конкретные местообитания по мере продвижения, на что указывает современный пространственный паттерн распределения групп риботипов этих таксонов.

Таким образом, можно выделить два основных направления расселения представителей рода *Delphinium* на территории юго-востока России: первое – со стороны Средиземноморья на Кавказ и Предкавказье, предположительно, в конце плиоцена (предковые формы *D. freynii*, *D. macropogon*, *D. puniceum*, *D. samurense* и *D. sergii*); второе – со стороны Средней или Центральной Азии (горы Памир и Тянь-Шань, Тибетское нагорье) на Восточно-Европейскую равнину в позднем плейстоцене (*D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. dictyocarpum*, *D. duhmbergii*, *D. litwinowii*, *D. elatum*, *D. pubiflorum*, *D. uralense*) и на Кавказ − в голоцене (*D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. caucasicum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae*, *D. fedorovii*, *D. flexuosum*, *D. gelmetzicum* и *D. speciosum*). Первое связано с миграцией ксерофитных

и мезофитных форм в результате аридизации климата, второе – с распространением экотонных лесостепных сообществ в теплые межледниковые эпохи позднего плейстоцена.

С точки зрения таксономической обработки изученных представителей рода *Delphinium*, исходя из полученных результатов анализа гаплотипов ITS2, не вызывает сомнений видовая самостоятельность *D. puniceum*, *D. macropogon*, *D. mariae* и *D. samurense*. Поддерживается синонимичность *D. freynii* и *D. sergii*; в настоящее время оба эти таксона приняты в качестве синонимов *D. schmalhausenii*, согласно POWO (2023). Достаточно обособленными являются образцы *D. pubiflorum*. Объединение одного образца, идентифицированного по морфологическим ключам как *D. pubiflorum*, в подкластер с образцами *D. dictyocarpum* может свидетельствовать о гибридизации между этими таксонами. *Delphinium cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii* и *D. litwinowii* следует считать синонимами с приоритетным названием *D. cuneatum*. *Delphinium dictyocarpum*, *D. elatum* и *D. uralense*, по-видимому, легко гибридизируют с *D. cuneatum* в симпатрических популяциях в зонах перекрывания ареалов, что существенно усложняет разделение этих таксонов. Они не формируют самостоятельных клад, а отдельные образцы попадают в неразрешённую часть дерева. *Delphinium arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. caucasicum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae*, *D. fedorovii*, *D. flexuosum*, *D. gelmetzicum* и *D. speciosum* плохо разделяются по результатам секвенирования. С одной стороны, это может быть следствием гибридизации этих таксонов, с другой, учитывая относительно недавнее время их расхождения – незавершенных процессов видообразования.

В целом, результаты анализа риботипов соответствуют разделению исследованных таксонов методами линейной морфометрии. Одной из наиболее вероятных причин сложного характера отношений между таксонами секции *Delphinastrum* может быть географическая и экотопическая подразделённость данных таксонов под влиянием природно-климатических условий произрастания. В пользу этого говорит и корреляционный анализ характера изменчивости морфологических признаков по градиентам географических координат. Паттерн морфологической изменчивости представленных таксонов коррелирует с паттерном распределения групп риботипов, выявленных в результате филогеографического анализа, и свидетельствует в пользу незавершенности процессов видообразования внутри этой группы.

Глава 8. Оценка генетического и морфологического разнообразия популяций *Globularia bisnagarica* восточно-европейского фрагмента ареала

Globularia bisnagarica L. (= *G. punctata* Lapeyr.) является редким, реликтовым представителем древне-средиземноморской флоры с дизъюнктивным ареалом (Саксонов, Сенатор, 2012; Саксонов, Сидякина, 2016). Вид включен в Красную книгу РФ (Гельтман, 2008). Основная часть

ареала расположена в Атлантической, Средней и Южной Европе, а также Средиземноморье. Северо-восточный эксклав *G. bisnagarica*, располагающийся на территории России, удален от основного ареала более чем на 1500 км. Помимо этого, существенная пространственная обособленность некоторых популяций наблюдается и внутри фрагмента. Например, самая удаленная локальная популяция, произрастающая на Ставропольской возвышенности, находится на расстоянии примерно в 900 км от остальных (рис. 11, заливка 1).

В изученных локальных популяциях *G. bisnagarica* восточноевропейского фрагмента ареала обнаружена полная генетическая однородность как по хлоропластным, так и по ядерным маркерам. Более того, и на протяжении всего ареала этого вида, включая западноевропейские образцы (KP278480, MG428585 и MG428531), в выравниваниях ITS-региона рДНК не обнаружено ни одной замены/индела. Отличие между образцами западноевропейского (KT853056, KT853069, MG428461) и восточноевропейского (ON416865) фрагментов дизъюнктивного ареала *G. bisnagarica* обнаружено только в регионе *trn*L−*trn*F хлДНК в виде делеции в десять нуклетидов (AGGATGAAGG) у всех образцов восточноевропейских популяций.

Представленная Affenzeller et al. (2018) по результатам BEAST анализа хронограмма максимальной достоверности (MCC) спейсеров ITS1, ITS2 рДНК и маркеров *atp*b–*rbc*L, *rpS*16 и *mat*K хлДНК позволила оценить возраст гапло-/риботипов *G. bisnagarica* ~ 500 тыс. лет (диапазон от 1 млн. до 250 тыс. лет), что соответствует раннему плейстоцену. Полученные результаты совпали с мнением целого ряда авторов (Comes, Kadereit, 2001; Comes, Kadereit, 2003; Kadereit et al., 2004; Kadereit, Comes, 2005) о предполагаемой скорости эволюции в роде *Globularia* – 0.33 чистых событий видообразования на миллион лет. Предковый ареал – Средиземноморье.

С учётом полученных нами данных можно предположить, что *G. bisnagarica* получила широкое распространение в эпоху Донского оледенения (~ 800−500 тыс. лет назад; Величко и др., 1999) Восточно-Европейской равнины и имела непрерывный ареал. Ядро перигляциальных ландшафтов составляли степные растительные сообщества, приспособленные к холодным приледниковым условиям (холодные степи) (Серебрянная, 1982; Величко, 2012). При этом миграция вида со стороны Балканского полуострова, как в западном, так и в восточном направлении, происходила быстро, поскольку никаких мутаций (даже в потенциально полиморфных маркерах ITS1 и ITS2 рДНК) не успело накопиться, за исключением одной делеции в регионе *trn*L−*trn*F хлДНК у всех образцов восточноевропейских популяций. Черное море в эту эпоху, согласно палеогеографической реконструкции (Янина, 2009), находилось в стадии Раннечаудинской регрессии, расширяя сухопутный коридор для миграции средиземноморской флоры на восток (рис. 11, линия 6). Язык ледника, покрывавшего практически всю Восточно-Европейскую равнину в это время,

опускался до среднего и нижнего течения Дона, и, по-видимому, являлся барьером для расселения *G. bisnagarica* на этой территории, поэтому пространственный паттерн распределения ее популяций совпадает с его очертаниями (рис. 11, линии 3, 5).

Рис. 11 − Современный ареал *G. bisnagarica* и местоположение точек исследования. Все популяции представляют собой один гаплотип по данным секвенирования маркеров *trn*L-*trn*F, *rbc*L, *rps*16 и ITS. *1* – примерные границы современного ареала; *2* – границы затопления Понто-Каспия в эпоху Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря; *3* – граница Днепровского оледенения по Маркову и др. (1965); *4* – граница Днепровского оледенения по Величко и др. (1999); *5* − граница Донского оледенения по Величко и др. (1999); 6 – граница Раннечаудинской регрессии Черного моря (Янина, 2009). Граница Днепровского оледенения в Западной Европе (the Wolstonian Stage) приведена по Palacios et al. (2021). Образцы западноевропейских популяций загружены из GenBank

Дизъюнкция в прошлом непрерывного ареала может быть связана с последующим Днепровским оледенением (~ 300−250 тыс. лет назад; Величко и др., 1999) Восточно-Европейской равнины и происходившей синхронно с ним Раннехазарской трансгрессией Каспийского моря (~ 300 тыс. лет назад; Янина, 2009). Язык ледника в эту эпоху спускался до среднего течения Днепра (рис. 11, линии 3, 4) и мог уничтожить имеющиеся там популяции вида. То же самое можно сказать и о Раннехазарской трансгрессии Каспийского моря. Если принять объединение Донского и Днепровского оледенений в одно, датируемое ~ 300−250 тыс. лет назад (Марков и др., 1965), то распространение популяций *G. bisnagarica* на северо-восток ограничивалось бы не только границами ледникового щита, но и границей акватории Раннехазарской трансгрессии (Янина, 2009). Тогда ареал вида в восточной части, учитывая постгляциальное восстановление растительности, был бы представлен лишь Ставропольской возвышенностью. Дизъюнкция популяций Ставропольской и Приволжской возвышенностей, с одной стороны, может быть следствием затопления территории, расположенной между ними, Раннехвалынской трансгрессией Каспийского моря (рис. 11, заливка 2). С другой стороны, фрагментация ареала может являться результатом вытеснения перигляциальной растительности стремительно развивающимися лесными и степными формациями в межледниковые эпохи

и, как следствие, исчезновения подходящих для *G. bisnagarica* местообитаний.

Значения морфологических признаков в большинстве своём увеличивались в направлении с юго-востока на северо-запад исследованной части ареала, т.е. в направлении более прохладных и влажных условий произрастания. Учитывая тот факт, что изученные в нашей работе популяции *G. bisnagarica* в отношение изменчивости морфологических параметров образуют два четко очерченных географических кластера, разделенных естественным физическим барьером – рекой Волгой, обоснованно предполагать, что длительная экогеографическая, и, – как следствие, – репродуктивная изоляция могла стать причиной подобной дифференциации популяций. По-видимому, разреженные кальцефильные сообщества Право- и Левобережья представляют собой современные рефугиумы.

Таким образом, *G. bisnagarica*, популяции которой приурочены к тем участкам, где происходит размыв почвенного слоя и выход на поверхность коренных пород, обладая морфологическими преимуществами, необходимыми для выживания в экстремальных условиях обитания, могла получить широкое распространение в эпохи Донского и/или Днепровского оледенений и занимать обширные территории между ледниковым щитом и высокими горными хребтами, такими как Кавказ, Урал, Альпы, Богемский массив и Карпаты. Последующие флуктуации климата и ритмика бассейнов Понто-Каспия, судя по всему, привели к фрагментации ее ареала и вытеснению стремительно развивающимися лесными и степными формациями в разреженные кальцефильные сообщества, представляющие собой современные рефугиумы. Принимая во внимание то, что на всём протяжении исследованного фрагмента ареала *G. bisnagarica* демонстрирует отсутствие генетического разнообразия (даже в потенциально полиморфных маркерах ITS1 и ITS2 рДНК), выявленная морфологическая дифференциация популяций на правобережные и левобережные по отношению к р. Волге, по-видимому, имеет модификационную природу, обусловленную действием природно-климатических факторов и локальных условий произрастания.

Глава 9. Отражение динамики растительного покрова Прикаспия в филогеографии степных растений

В главе проводится сравнение и обобщение результатов, полученных на разных объектах, формулируются основные положения и выводы.

Поддерживается мнение о влиянии на флору Кавказа миграционного потока из Средиземноморья, относящегося к концу плиоцена, и роли Кавказа как вторичного центра видообразования (Кузнецов, 1891; Гроссгейм, 1936; Фёдоров, 1958; Гагнидзе, 1966, 1974, 1976; Гаджиев, 1966; Алтухов, 1966, 1974; Тахтаджян, Фёдоров, 1972; Колаковский, 1974, 1975; Львов, 1976; Галушко, 1976 и др.). Так, анализ молекулярного датирования показал, что дивергенция степных *C. bulbocodium, D. puniceum, T. suaveolens* и лугового *F. meleagroides* от предковых форм происходила во второй половине плиоцена, которая характеризовалась фрагментацией Паратетиса и

последующими за ней периодами засухи, в результате которых лесные экосистемы стали вытесняться прогрессивно развивающимися ксерофильными травянистыми формациями (Абрамова, 1977; Palcu et al., 2021). Генеалогический анализ гаплотипов хлДНК и риботипов рДНК *C. bulbocodium*, *D. puniceum*, *D. samurense*, *T. suaveolens*, *F. meleagroides* и *F. ruthenica* указывает на Кавказ или Предкавказье как источник их предковых форм.

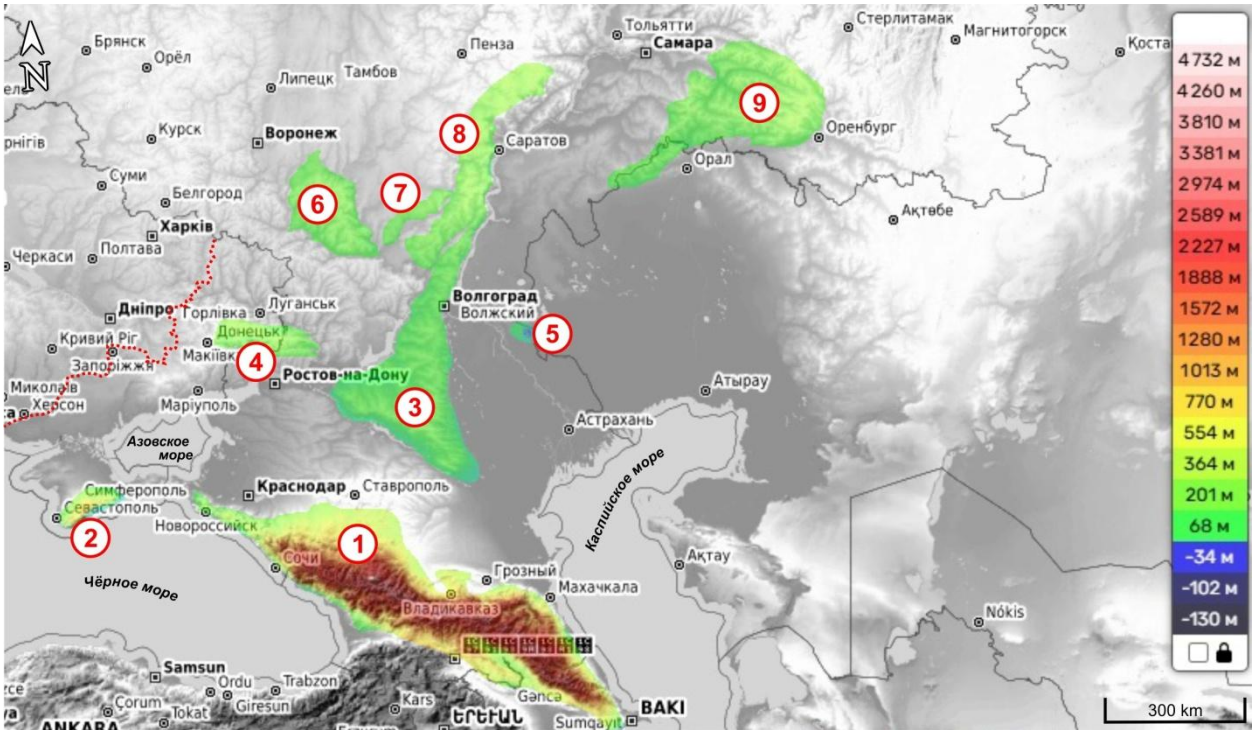


Рис. 12 – Карта степных рефугиумов позднего плейстоцена и голоцена, выявленных на исследованной территории.
1 – Кавказские горы, *2* – Горный Крым, *3* – возвышенность Ергени, *4* – Донецкий кряж, *5* – холм Большое Богдо, 6 – Калачская возвышенность, *7* – Медведицкие Яры, *8* − Приволжская возвышенность, *9* – Общий Сырт. Шкала – высота над уровнем моря (относится только к территориям рефугиумов)

Показано, что пространственная структура генетического полиморфизма степных эфемероидов *T. suaveolens* и *C. bulbocodium* коррелирует с границами Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря и указывает на существование ледниковых и межледниковых степных рефугиумов протяжении всего позднего плейстоцена и голоцена. На территории бассейнов Понто-Каспия к таким рефугиумам можно отнести: Горный Крым, Северный и Северо-Западный Кавказ, Ергенинскую и Калачскую возвышенности, восточные склоны Приволжской возвышенности, Общий Сырт, Медведицкие Яры, Донецкий кряж и холм Большое Богдо (рис. 12).

В целом, филогеографические реконструкции истории формирования современных ареалов изученных видов позволили прояснить ряд дискуссионных моментов в существующих представлениях о роли природно-

климатических факторов во флорогенезисе с учётом палеогеографических реконструкций бассейнов Понто-Каспия.

Глава 10. Вопросы охраны генетического разнообразия *in situ, ex situ, in vitro*

В главе приводятся краткий обзор путей сохранения разнообразия растительного мира с практической точки зрения, их преимущества и недостатки.

Существующая в настоящее время сеть ООПТ регионального и федерального значения достаточно полно охватывает отдельные филогенетические линии *T. suaveolens, F. meleagroides, F. ruthenica*, *G. bisnagarica* и таксонов *Delphinium* юго-востока России. С целью сохранения уникальных эволюционных единиц *C. bulbocodium* предложено: 1) придать статус ООПТ регионального значения участкам в окр. пос. Лиманный Ровенского района Саратовской области и в окр. с. Переволочное Калачеевского района Воронежской области; 2) расширить охранный статус участка в окр. станицы Сергиевская Даниловского района Волгоградской области, расположенного на территории Государственного охотничьего заказника регионального значения «Раздорский» до объекта ботанического назначения. Обсуждаются результаты клонального микроразмножения *T. suaveolens*, *F. meleagroides* и *F. ruthenica in vitro* как возможного пути сохранения и воспроизводства ценных генотипов.

ВЫВОДЫ

1. Пространственная структура генетического полиморфизма степных эфемероидов *T. suaveolens* и *C. bulbocodium* коррелирует с границами Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря и указывает на существование ледниковых и межледниковых степных рефугиумов на протяжении всего позднего плейстоцена и голоцена. Структура генетического полиморфизма эфемероидов из других экологических групп (луговые, лесостепные), в целом, подтверждает выявленную закономерность.

2. На территории бассейнов Понто-Каспия к рефугиумам ледниковых и межледниковых стадий можно отнести: Горный Крым, Северный и Северо-Западный Кавказ, Ергенинскую и Калачскую возвышенности, восточные склоны Приволжской возвышенности, Общий Сырт, Медведицкие Яры, Донецкий кряж и холм Большое Богдо.

3. Дизъюнкция современного ареала *G. bisnagarica* коррелирует с границами Донского оледенения − в восточной части ареала, с границами Днепровского оледенения – в западной части ареала. Наши результаты указывают на то, что *G. bisnagarica* имела непрерывный ареал в эпохи оледенений и занимала обширные территории между ледниковым щитом и высокими горными хребтами (Кавказ, Урал, Альпы, Богемский массив, Карпаты). Последующие флуктуации климата и ритмика бассейнов Понто-Каспия привели к фрагментации ее ареала и вытеснению стремительно развивающимися лесными и степными формациями в разреженные

кальцефильные сообщества, представляющие собой современные рефугиумы.

4. Миграции таксонов рода *Delphinium* на территории юго-востока России связаны с ледниково-межледниковой ритмикой Восточно-Европейской равнины и оледенениями Кавказа в плиоцен-четвертичное время. Современная пространственная структура генетического полиморфизма таксонов рода *Delphinium* отражает события последнего времени, связанные с отдаленной гибридизацией и незавершенностью процессов видообразования.

5. У абсолютного большинства изученных объектов пространственная структура морфологической изменчивости линейных параметров (как и окраски околоцветника *T. suaveolens*) не коррелирует с выявленными генетическими группами или эволюционными единицами, что необходимо учитывать для грамотного планирования природоохранных мероприятий.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Список статей в научных журналах, входящих в международные базы цитирования «Web of Science» и/или «Scopus» (*), и в российских рецензируемых научных журналах из списка ВАК

1) ***Kritskaya T.A.**, Kashin A.S., Perezhogin Y.V., Murtazaliev R.A., Anatov D.M., Friesen N. Genetic diversity of *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) and its evolutionary relationship with early cultivars of *T. gesneriana* // Plant Systematics and Evolution. − 2020. − Vol. 306, № 2. − Article number 33.

2) ***Kritskaya T. A.**, Kashin A. S., Petrova N. A., Leweke M. ISSR analysis of *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) populations in the European part of the species range // Nordic Journal of Botany. − 2021. − Vol. 39, № 9. − Article number NJB12575.

3) *Kashin A.S., **Kritskaya T.A.**, Bogoslov A.V., Shilova I.V., Parkhomenko A.S., Ishmuratova M.M., Fedorov N.I. Taxonomic revision of *Delphinium* (Ranunculaceae) in the South-East of European Russia // Plant Systematics and Evolution. – 2021. – Vol. 307, № 5. – Article number 59.

4) ***Kritskaya T.**, Kashin A.S. Genetic diversity of *Tulipa suaveolens* Roth in the Crimea based on ISSR data // Acta Horticulturae. – 2021. – Vol. 1324. – P. 297−304.

5) *Kashin A.S., **Kritskaya T.A.**, Schanzer I.A. Genetic polymorphism of *Tulipa gesneriana* L. evaluated on the basis of the ISSR marking data // Russian Journal of Genetics – 2016. − Vol. 52, № 10. – P. 1023−1033.

6) *Kashin A.S., Petrova N.A., Shilova I.V., **Kritskaya T.A.**, Ugolnikova Y.V. Vitality dynamics of *Tulipa gesneriana* L. (Liliaceae, Liliopsida) populations in the Lower Volga region and adjacent territories // Biology Bulletin. − 2018. − Vol. 45, № 10. P. 1225−1234.

7) ***Kritskaya T.A.**, Kashin A.S., Kasatkin M.Yu. Micropropagation and somaclonal variation of *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) *in vitro* // Russian Journal of Developmental Biology. – 2019. − Vol. 50, № 4. − P. 209–215.

8) *Bogoslov A.V., Shilova I.V., Parkhomenko A.S., **Kritskaya T.A.**, Grebenyuk L.V., Kashin A.S. Current status of populations of *Delphinium* L.

(Ranunculaceae, Magnoliópsida) species in the Lower-Volga region and adjacent territories. − Biology Bulletin. – 2020. − Vol. 47, № 10. − P. 1442–1451.

9) *Kashin A.S., **Kritskaya T.A.**, Kondratieva A.O., Petrova N.A., Shilova I.V., Parkhomenko A.S., Murtazaliev R.A. The Geographical distribution of flower colour in *Tulipa suaveolens* Roth across its european range // Biology Bulletin. − 2022. − Vol. 49, № 10. P. 1947–1957.

10) *Kashin A.S., Bogoslov A.V., Parkhomenko A.S., Shilova I.V., **Kritskaya T.A.**, Murtazaliev R.A. Geometric morphometrics and phylogenetic analysis of *Delphinium* taxa from south of Russia // Turczaninowia. – 2023. – Vol. 26, № 2. – P. 59−81.

11) ***Kritskaya T.A.**, Kashin A.S. Genetic diversity of *Tulipa suaveolens* Roth populations in Volgograd province // Proceedings on applied botany, genetics and breeding. − 2019. – Vol. 180, № 4. – P. 88−93.

12) Блуднева Е.А., **Крицкая Т.А.**, Кашин А.С., Кириллова И.М. Сохранение видов и сортов растений в коллекции *in vitro* Ботанический сада Саратовского госуниверситета // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. − 2014. − Т. 14, № 1. − С. 48−54.

13) **Крицкая Т.А.**, Кашин А.С. Особенности длительного депонирования культуры *in vitro* некоторых редких и исчезающих видов растений Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. − 2016. − Т. 16, № 1. − С. 74−80.

14) Кашин А.С., Петрова Н. А., Шилова И. В., **Крицкая Т.А.**, Угольникова Е.В. Динамика жизненности популяций *Tulipa gesneriana* L. (Liliaceae, Liliopsida) в Нижнем Поволжье и на прилегающих территориях // Поволжский экологический журнал. − 2017. − № 3. − С. 206−274.

15) **Крицкая Т.А.**, Кашин А.С., Шанцер И.А., Данилов В.А. Генетическая дифференциация *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) на северо-востоке ареала в европейской части России // Ботанический журнал. − 2018. − Т. 103, № 2. − С. 187−201.

16) Кашин А.С., Богослов А.В., Шилова И.В., **Крицкая Т.А.**, Пархоменко А.С., Гребенюк Л.В., Петрова Н.А. Изменчивость морфологических признаков видов рода *Delphinium* (Ranunculaceae) Юго-Востока европейской части России // Ботанический журнал. − 2019. − Т. 104, № 7. − С. 1090–1109.

17) Богослов А.В., Шилова И.В., Пархоменко А.С., **Крицкая Т.А.**, Гребенюк Л.В., Кашин А.С. Состояние популяций видов *Delphinium* L. (Ranunculaceae, Magnoliópsida) в Нижнем Поволжье и прилегающих территориях // Поволжский экологический журнал. – 2020. − № 3. − С. 271−289.

18) Кашин А.С., **Крицкая Т.А.**, Кондратьева А.О., Петрова Н.А., Шилова И.В., Пархоменко А.С., Муртазалиев Р.А. Географические особенности распределения растений *Tulipa suaveolens* Roth (Liliaceae, Magnoliophyta) по окраске цветка в европейской части ареала // Поволжский экологический журнал. – 2022. − № 2. – С. 150−172.

19) Shilova I.V., Kashin A.S., Parkhomenko A.S., Bogoslov A.V., **Kritskaya T.A.**, Kasatkin M.Yu. The ecological and coenotic features of plant communities containing *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) in the Lower Volga region // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, № 1. С. 110–123.

Статьи в сборниках

20) Кашин А. С., Шилова И. В., Петрова Н. А., **Крицкая Т. А.** О необходимости расширения сети ООПТ и разработки комплексных мер по мониторингу, сохранению, реинтродукции и восстановлению численности популяций редких и исчезающих видов растений в Саратовской области // Научные труды Национального парка «Хвалынский»: сб. науч. ст. Саратов – Хвалынск: ООО «Буква», 2014. Вып. 6. Ч. 2. С. 25−32.

21) **Крицкая Т. А.**, Епифанов В. С., Кашин А. С. Мониторинг состояния ценопопуляций *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae) в Саратовской области // Живые системы – 2023: сб. науч. ст. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2023. С. 61−62.

22) **Крицкая Т. А.** Филогеографический анализ Рябчика шахматовидного (Лилейные) и его связь с эндемичными видами *Fritillaria* Северного Кавказа // Живые системы – 2023: сб. науч. ст. [Электронное издание сетевого распространения] Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2023. С. 169−172.

23) Кондратьева А.О., **Крицкая Т.А.**, Пархоменко А.С., Кашин А.С. Генетический полиморфизм в популяциях *Globularia* L. восточно-европейского фрагмента ареала // Исследования молодых ученых в биологии и экологии – 2023: Сб. науч. ст. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых. Саратов: ООО «Амирит», 2023. С. 54−55.

24) **Крицкая Т.А.**, Кашин А.С. Генетическая дифференциация популяций *Colchicum bulbocodium* Ker gawl. (Colchicaceae) европейской части России // Систематические и флористические исследования Северной Евразии: матер. III Всерос. конф. с междунар. уч. (к 95-летию со дня рождения профессора А.Г. Еленевского) [Электронное издание сетевого распространения]. – Москва: МПГУ, 2023 − С. 189−193.

Монографии

25) Кашин А.С., **Крицкая Т.А.**, Петрова Н.А., Шилова И.В. Тюльпан Геснера в Саратовской области и на прилегающей территории: распространение, разнообразие, состояние популяций. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2017. 100 с.

26) Кашин А.С., **Крицкая Т.А.**, Петрова Н.А., Шилова И.В., Пархоменко А.С. Особенности биологии и экологии *Tulipa suaveolens* Roth в европейской части ареала. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2023. 224 с.

Депонированные данные

27) **Kritskaya T.A.**, Kashin A.S., Perezhogin Y.V., Murtazaliev R.A., Anatov D.M., Friesen N. Genetic diversity of *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) and its evolutionary relationship with early cultivars of *T. gesneriana* [Dataset]. TreeBASE, 2020. www.treebase.org; ID 25187

28) Kashin A.S., **Kritskaya T.A.**, Bogoslov A.V., Shilova I.V., Parkhomenko A.S., Ishmuratova M.M., Fedorov N.I. Taxonomic revision of *Delphinium* (Ranunculaceae) in the South-East of European Russia [Dataset]. Dryad Digital Repository, 2020. https://doi.org/10.5061/dryad.k0p2ngf59

29) **Kritskaya T.**, Kashin A., Petrova N., Leweke M. ISSR analysis of *Tulipa suaveolens* (Liliaceae) populations in the European part of the species range [Dataset]. Dryad Digital Repository, 2021. https://doi.org/10.5061/dryad.6wwpzgmv4

30) **Kritskaya T.**, Kondratieva A., Parkhomenko A., Shilova I., Abramova L., Kashin A. *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) shows genetic uniformity throughout its disjunctive range [Dataset]. Dryad Digital Repository, 2022. https://doi.org/10.5061/dryad.pg4f4qrtr