

Изменчивость морфометрических признаков и генетическая дифференциация по ISSR-маркерам *Adonis villosa* Ledeb. (Ranunculaceae) в Республике Алтай

Е. В. ЖМУДЬ¹, И. Н. КУБАН¹, А. А. АЧИМОВА², О. Н. ПАПИНА³, О. В. ДОРОГИНА^{1, 4}

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
E-mail: elenazhmu@gmail.com

²Алтайский филиал Центрального сибирского ботанического сада СО РАН
“Горно-Алтайский ботанический сад”
649218, Республика Алтай, Шебалинский район, с. Камлак, урочище Чистый Луг

³Горно-Алтайский государственный университет,
649000, Республика Алтай, Горно-Алтайск, ул. Ленкина, 1

⁴Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Статья поступила 15.01.2024

После доработки 26.02.2024

Принята к печати 06.03.2024

АННОТАЦИЯ

Исследованы численность и морфогенетические показатели стародубки пушистой (*Adonis villosa* Ledeb.) – уязвимого вида в Республике Алтай (РА). Впервые выявлена генетическая дифференциация в шести ценопопуляциях (ЦП) *A. villosa* с использованием ISSR-маркеров и варибельность морфометрических признаков у особей из четырех ЦП в РА. В изученных ЦП обнаружено сходство по варибельности морфометрических признаков, а также снижение численности зрелых генеративных особей в 1,5–2,0 раза за период с 2017 по 2023 г. Генетическая структура исследована с использованием шести праймеров: М-9, UBC-834, UBC-830, UBC-857, UBC-840, UBC-811. Из них наиболее информативным оказался UBC-857. У представителей шести изученных ЦП нами выделены четыре варианта по распределению ISSR-маркеров и обнаружено высокое сходство (88–99 %) по распределению ISSR-маркеров между ЦП *A. villosa*. Внутрипопуляционное сходство у особей этого вида также высокое и составило 97 %. Вероятной причиной этого явления может быть малочисленность зрелых генеративных особей в ЦП (не более 10) и их пространственная изоляция. В Северном Алтае для *A. villosa* необходим особый подход к сохранению из-за гомогенности генетической структуры ЦП, что приводит к уязвимости этого вида.

Ключевые слова: адонис пушистый, стародубка пушистая, уязвимый вид, ценопопуляции, генетический полиморфизм, параметры генетического разнообразия.

ВВЕДЕНИЕ

Адонис пушистый, или стародубка пушистая (*Adonis villosa* Ledeb.) – редкий вид с сибирским ареалом, занесенный в Красные книги Алтайского края [Верещагина, 2006], Курганской [Науменко, Васеева, 2012], Омской [Свириденко, 2015] и Кемеровской [Куприянов, 2021] областей и Республики Алтай [Орлов и др., 2017]. Основной ареал вида – азиатский, так как он распространен на степных территориях от Западной Сибири до Казахстана, где вид произрастает в основном в умеренном биоме [Seidl et al., 2022]. Этот южно-сибирско-казахстанский вид охватывает юг Западной Сибири. *A. villosa* охраняется в региональных заказниках Кузбасса [Регламент..., 2021] и Омской области [Лесохозяйственный регламент..., 2023], Алтайского края, где охраняется в заказниках Гилевский и Чинетинский [Верещагина, 2006]. В Курганской области вид находится на северо-западном пределе ареала [Науменко, Васеева, 2012].

Adonis villosa – ксеромезофильный вегетативно неподвижный эфемероид. Произрастает в равнинных степях, реже на опушках разреженных березняков, предпочитая луговые западинки с черноземными легкосуглинистыми плодородными почвами на карбонатных подстилающих породах [Куприянов и др., 2022]. Растет на злаково-разнотравных, коострецово-разнотравных, полынно-злаковых, полынно-горичниково-овсянице-вых закустаренных остепненных лугах и луговых разнотравно-овсянице-вых, полынно-овсянице-вых, разнотравно-ковыльно-овсянице-вых степях, в разреженных березовых и осиново-березовых лесах, в сосновых лесополосах в пределах степной и лесостепной зон [Свириденко, 2015]. В Республике Алтай произрастает в полынно-разнотравно-злаковых, разнотравно-злаковых степях, спирейно-очитковых, черемухо-спирейно-злаковых остепненных лугах, в разреженных пихтово-сосновых лесах.

По литературным данным, в культуре растения *A. villosa* долговечны. Например, в Кузбасском ботаническом саду вид растет более 10 лет; зацветает только на третий год жизни. Авторы отмечают, что положительные результаты получены при посеве не совсем созревших семян, сразу после их сбора, так как через четыре месяца семена частично теря-

ют всхожесть. В культуре авторами отмечена чрезвычайно низкая всхожесть семян [Куприянов и др., 2022]. Сведения о численности и морфобиологических особенностях *A. villosa* в природных условиях в научной литературе отрывочны. Известно, что численность особей в изученных ценопопуляциях в Кузбассе составляет от 500 до 2800 шт. Лимитирующие факторы – распашка земель, добыча угля и низовые пожары – угроза для существования популяций стародубки пушистой, поскольку по срокам они совпадают с цветением растений [Манаков, 2012; Куприянов, 2021]. В Омской области популяции имеют численность от 3–40 до 400 особей и занимают площадь от 10 м² до 0,2 км². Вид хорошо выдерживает умеренную пастбищную нагрузку. Возможно быстрое исчезновение малых популяций вследствие распашки [Свириденко, 2015]. В настоящее время *A. villosa* в Омской области отнесен к видам, имеющим малую численность и распространенным на ограниченной территории или спорадически распространенным на значительных территориях, так как его численность медленно сокращается [Пликина и др., 2021].

В Курганской области *A. villosa* – это также редкий степной вид на северном пределе равнинной части ареала. Обладая низкой конкурентоспособностью на нарушенных человеком местообитаниях, исчезает при распашке степей и при перевыпасе скота [Науменко, Васеева, 2012]. В Алтайском крае в качестве лимитирующих факторов указываются быстрая потеря всхожести семян и хозяйственная деятельность (распашка, выпас скота) [Верещагина, 2006].

Изученные ранее в Северном Алтае ценопопуляции (ЦП) *A. villosa* неполночленны, частично цветут и слабо возобновляются. Лимитирующим фактором является их расположение вблизи населенных пунктов, где происходит строительство автомагистралей, а также уничтожение надземной части растений в начале периода вегетации [Папина, Ачимова, 2016]. При ранее проведенном исследовании динамики длины побегов и числа боковых побегов у зрелых генеративных особей из данных ЦП в течение трехлетнего периода наблюдений *A. villosa* в Северном Алтае выявлено, что достоверно более мощные особи произрастали под пологом леса [Ачи-

мова и др., 2021]. Изменчивость морфометрических характеристик отражает проявление адаптивных особенностей растений к определенным экологическим условиям. Сравнительный анализ межпопуляционной адаптивной изменчивости особенно важен для выявления благоприятных условий жизнедеятельности у представителей редких и уязвимых видов. Для этого необходим анализ изменчивости основных структур, формирующих фотосинтезирующую поверхность растений и, следовательно, следует включить в исследование большее число морфометрических признаков.

Сохранение генетического разнообразия является важной частью при разработке мер по сохранению редких краснокнижных видов [Schmidt et al., 2023]. Генетическая структура популяций *A. villosa* исследована в условиях сильно фрагментированной Кулундинской степи (Южная Сибирь) с помощью AFLP-маркеров. Согласно этим данным, несмотря на сильную фрагментацию, в ЦП *A. villosa* наблюдалось умеренное генетическое разнообразие. Показано, что климат не оказал влияния на генетическую структуру данного вида [Rösche et al., 2018].

Исследованные нами ЦП в Северном Алтае немногочисленны (число зрелых генеративных особей составляло не более 10), они расположены на сравнительно небольшой территории, протяженность которой не превышала 70 км. Вследствие этого проблема фрагментации может быть актуальной из-за возможного негативного влияния на генетическую гетерогенность в ЦП этого вида в Северном Алтае. Цель данного исследования – определение изменчивости морфометрических характеристик и генетической дифференциации в ЦП *A. villosa* в Республике Алтай.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изменчивость морфометрических показателей у зрелых генеративных особей *A. villosa* нами исследована в четырех ЦП, расположенных в северной части Республики Алтай на площади около 115 м² в 2023 г. (табл. 1). Это особи из четырех ЦП, произраставших в 6 км от с. Чоя, в окрестностях сел Паспаул, Левинка, г. Горно-Алтайска (в правобережье р. Майма) (см. табл. 1). Динамика их численности исследована в шести ЦП в течение четырех лет наблюдений (2017–2023 гг.) (см. табл. 1). В 2023 г. в ЦП5 произрастали две зрелые генеративные особи, а в ЦП6 – только одна, поэтому в данных ЦП морфометрический анализ нами не проводился. У 34 зрелых генеративных особей (ЦП 1 – ЦП 4) исследованы в 2023 г. морфометрические показатели надземной части растений: диаметр основания надземной части (см), длина генеративного побега (см), число листьев на генеративном побеге, диаметр цветка (см), размеры листа (длина и ширина (см)), индекс листа (соотношение длины к ширине листовой пластинки), число побегов у особи – генеративных и вегетативных, и их соотношение. Полученные данные (средние значения, ошибка средних, подсчет корреляционных связей и варьирование) обработаны с помощью стандартных программ StatSoft EXCEL. Сравнительный анализ средних значений признаков (для малых выборок) выполнен по непараметрическим критериям [Mann, Whitney, 1947], визуализация данных – с использованием пакета программ StatSoft STATISTICA 8.0. Интерпретация полученных результатов по варьированию дана в соответствии со шкалой, разработанной С. А. Мамаевым [1975], обсуждение скоррелированности признаков – по работе Г. Ф. Лаки-

Т а б л и ц а 1
Характеристика фитоценозов с участием *Adonis villosa*

№ ЦП	Местоположение	Название фитоценоза (площадь ЦП, м ²)
ЦП1	6 км от с. Чоя	Спирейно-очитковая ассоциация (12)
ЦП2	окр. с. Паспаул	Пихтово-сосново-спирейно-злаково-адонисовая ассоциация (30)
ЦП3	окр. с. Левинка	Черемухо-спирейно-злаковая ассоциация (60)
ЦП4	окр. г. Горно-Алтайска, правобережье р. Майма	Полынно-очитковая ассоциация с примесью спиреи трехлопастной (12)
ЦП5	окр. с. Кызыл-Озек	Полынно-разнотравно-злаковая ассоциация
ЦП6	2,3 км от с. Куташ	Разнотравно-злаковая ассоциация

на [1990]. Название вида соответствует международной номенклатуре [The International Plant Names Index..., 2023].

Молекулярно-генетические исследования проведены у 1–10 особей *A. villosa* в 2023 г. в каждой из шести ЦП в соответствии со стандартными протоколами для растений. ДНК выделена из фрагментов листьев, высушенных в полевых и лабораторных условиях стандартными методами [Набиева и др., 2020]. Использовано шесть праймеров: M-9, UBC-834, UBC-830, UBC-857, UBC-840, UBC-811. Из них наиболее информативным оказался UBC-857. Каждый ISSR-маркер рассматривался как доминантный, и отмечалось его наличие (1) либо отсутствие (0). Генетические дистанции рассчитывали по Nei & Li [1979]. Результаты статистического анализа и их визуализация получены с использованием пакета программ TREECON и специализированного макроса GenAlEx6.51 для MS-Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Результаты морфометрических исследований показали, что в 2023 г. большинство средних значений признаков достоверно не отличалось у особей из исследованных ЦП *A. villosa* (табл. 2). Нами выявлено, что представители из ЦП2 характеризовались достоверно (в 2,2 раза) более низким числом побегов (в том числе генеративных – почти в 3,8 раза) по сравнению с особями из ЦП4 (см. табл. 2, рис. 1).

У особей из ЦП4 отмечено более высокое число цветков по сравнению с этим признаком у представителей из ЦП1, которое не отличалось от данного показателя у особей из других исследованных ЦП *A. villosa* (рис. 2).

Коэффициенты вариации изученных морфометрических признаков характеризовались значительной амплитудой и изменялись в пределах от очень низких до очень высоких значений [Мамаев, 1975]. Отсутствие изменчивости или низкие ее значения выявлены у особей из всех четырех исследованных ЦП по диаметру цветка (см. табл. 2). Очень низкая изменчивость отмечена нами для среднего значения коэффициента семенификации в ЦП4.

Низкий и средний уровень изменчивости по длине генеративных побегов обнаружен

в ЦП1, ЦП3 и ЦП4. Такая же изменчивость выявлена по числу листьев на генеративном побеге у особей в ЦП1 и ЦП4. Средний уровень изменчивости отмечен нами для длины (ЦП2 и ЦП4) и ширины (ЦП3 и ЦП4) листа. Изменчивость большинства остальных исследованных морфометрических характеристик *A. villosa* укладывалась в диапазон от повышенного до очень высокого уровня. Таким образом, у представителей из изученных ЦП *A. villosa* отмечены по три морфометрических признака с низкой и средней изменчивостью, а у представителей из ЦП4 – шесть морфометрических признаков с таким уровнем изменчивости. Доля признаков с отсутствием, низкой или средней изменчивостью у представителей из данной ЦП наиболее высока и достигала почти половины (45,5 %) (см. табл. 2).

Доля зрелых выполненных семян в ЦП этого вида характеризовалась в среднем высокими значениями и составляла величину около или больше половины от общего числа сформированных семян. Однако достоверных отличий между ЦП по средним значениям этого признака нами не выявлено (см. табл. 2).

При исследовании растений в общей выборке из всех ЦП нами обнаружено семь пар признаков, скоррелированных в высокой степени ($r \geq 0,5$), что составило около 15,5 % от общего числа (45) пар признаков. Так, у особей с большей длиной побегов формируется большее число листьев ($r = 0,5$), диаметр особи обусловлен числом побегов ($r = 0,7$), в том числе вегетативных ($r = 0,7$); число побегов определяется соответственно числом генеративных ($r = 0,7$) и вегетативных ($r = 0,8$) побегов, а число генеративных побегов определяет соотношение с числом вегетативных ($r = 0,6$). Отрицательная взаимосвязь обнаружена у признаков ширина листа и листовой индекс ($r = -0,6$).

Исследование численности зрелых генеративных особей показало, что во всех ЦП этот показатель снизился в 1,5–2,0 раза за период с 2017 по 2023 г. (рис. 3). Однако в трех ЦП (ЦП2, ЦП5, ЦП6) в 2019 г. нами отмечено некоторое повышение числа зрелых генеративных особей по сравнению с 2017–2018 гг. В дальнейшем, в 2023 г., число таких особей в этих популяциях снова значительно сократилось в 1,5–14 раз (см. рис. 3).

Изменчивость морфометрических характеристик в ценопопуляциях *Adonis villosa* в Республике Алтай в 2023 г.

Показатель	ЦП1 (n = 7)		ЦП2 (n = 10)		ЦП3 (n = 10)		ЦП4 (n = 6)	
	$\frac{M \pm m}{\min - \max}$	$C_v, \%$	$\frac{M \pm m}{\min - \max}$	$C_v, \%$	$\frac{M \pm m}{\min - \max}$	$C_v, \%$	$\frac{M \pm m}{\min - \max}$	$C_v, \%$
1	$\frac{3,5 \pm 0,3}{2,5-5}$	26,1	$\frac{2,6 \pm 0,3}{1,5-4,0}$	31,3	$\frac{3,1 \pm 0,2}{2,2-5}$	24,2	$\frac{3,2 \pm 0,4}{2-5}$	31,0
2	$\frac{34,1 \pm 2,2}{29-44}$	17,3	$\frac{34,5 \pm 2,4}{27-47}$	21,5	$\frac{37,5 \pm 2,2}{25-46}$	18,7	$\frac{35,2 \pm 1,3}{32-40}$	9,2
3	$\frac{6,2 \pm 0,3}{5-7}$	12,2	$\frac{6,0 \pm 0,8}{2-10}$	43,7	$\frac{8,1 \pm 0,6}{6-12}$	25,0	$\frac{7,2 \pm 0,5}{5-9}$	18,5
4	$1,0 \pm 0,01$	0,0	$\frac{1,00 \pm 0,05}{0,8-1,3}$	12,4	$\frac{1,0 \pm 0,1}{0,9-1,1}$	10,1	$1,0 \pm 0,01$	0,0
5	$\frac{8,2 \pm 1,0}{6-12}$	29,4	$\frac{7,2 \pm 0,4}{5,5-9,0}$	15,8	$\frac{7,4 \pm 0,6}{5-10}$	23,8	$\frac{6,3 \pm 0,2}{5,5-7}$	9,6
6	$\frac{6,3 \pm 0,8}{3,5-9}$	30,3	$\frac{4,8 \pm 0,4}{3-6,5}$	24,4	$\frac{5,1 \pm 0,3}{4-6,5}$	17,2	$\frac{4,5 \pm 0,4}{3-5,5}$	19,5
7	$\frac{1,35 \pm 0,13}{0,9-1,7}$	23,9	$\frac{1,63 \pm 0,24}{0,9-3}$	36,8	$\frac{1,47 \pm 0,11}{1-2,2}$	24,4	$\frac{1,48 \pm 0,13}{1,2-2}$	21,5
8	$\frac{3,7 \pm 0,8}{2-7}$	50,8	$\frac{3,1 \pm 0,6}{1-8}$	61,7	$\frac{4,2 \pm 0,6}{3-9}$	47,4	$\frac{6,8 \pm 1,2}{5-13}$	44,8
9	$\frac{1,0 \pm 0,2}{0-2}$	57,7	$\frac{0,8 \pm 0,3}{0-2}$	98,6	$\frac{1,2 \pm 0,1}{1-2}$	35,1	$\frac{3,0 \pm 0,9}{1-7}$	73,0
10	$\frac{3,1 \pm 0,9}{1-7}$	76,7	$\frac{2,3 \pm 0,5}{1-6}$	68,1	$\frac{3,0 \pm 0,6}{2-8}$	62,9	$\frac{3,7 \pm 0,6}{2-6}$	37,3
11	$\frac{0,57 \pm 0,21}{0-1}$	75	$\frac{0,52 \pm 0,23}{0-2}$	125,8	$\frac{0,46 \pm 0,04}{0,13-0,67}$	30,7	$\frac{0,88 \pm 0,26}{0,25-2}$	71,7
12	1	—	$\frac{1,1 \pm 0,1}{1-2}$	30,1	$\frac{1,1 \pm 0,1}{1-2}$	28,7	$\frac{3,2 \pm 0,8}{2-7}$	64,5
13	$\frac{6}{0-6}$	—	$\frac{30,0 \pm 6,1}{12-64}$	61,1	$\frac{30,3 \pm 15,2}{7-59}$	87,1	$\frac{39,3 \pm 6,7}{29-52}$	29,7
14	$\frac{1}{0-1}$	—	$\frac{6,4 \pm 1,5}{1-13}$	70,3	$\frac{17,7 \pm 11,1}{0-38}$	108,3	$\frac{43,0 \pm 5,5}{34-53}$	22,2
15	85,7	—	$\frac{80,5 \pm 4,0}{59,4-96,6}$	14,8	$\frac{64,2 \pm 19,8}{31,9-100,0}$	53,3	$\frac{47,5 \pm 1,1}{46,0-49,5}$	3,9

П р и м е ч а н и е. M – среднее значение; m – ошибка среднего; C_v – коэффициент вариации (%), $\min - \max$ – лимит; 1 – диаметр надземной части особи, см; 2 – длина генеративного побега; 3 – число листьев на генеративном побеге; 4 – диаметр цветка; 5 – длина листа, см; 6 – ширина листа, см; 7 – индекс листа (отношение длины к ширине); 8 – число побегов у особи; 9 – число генеративных побегов; 10 – число вегетативных побегов; 11 – соотношение числа генеративных и вегетативных побегов; 12 – число цветков у особи; 13 – число зрелых семян; 14 – число невыполненных семян; 15 – доля зрелых выполненных семян, %; прочерк – отсутствие значений.

Таким образом, в результате исследования динамики численности нами выявлено снижение числа зрелых генеративных особей во всех исследованных ЦП *A. villosa* в 2023 г. по сравнению с 2017–2018 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

При проведении сравнительного анализа генетической структуры нами выявлено четыре варианта по распределению ISSR-маркеров у представителей из шести изученных

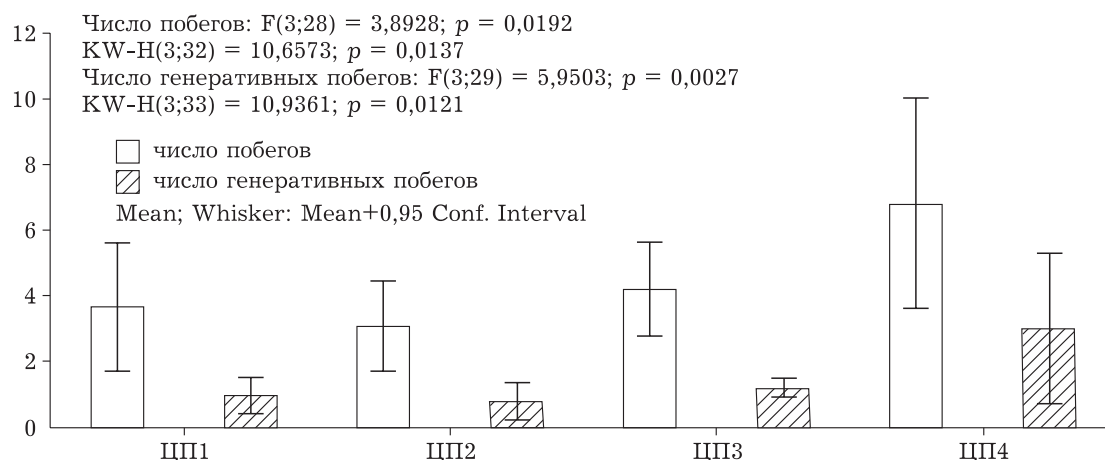


Рис. 1. Изменчивость числа побегов и числа генеративных побегов в популяциях у особей *Adonis villosa* в РА. По горизонтальной оси – номер ценопопуляций; по вертикальной – число побегов у особи. На диаграммах показаны средние значения признака с 95%-м доверительным интервалом

Depend.: число цветков	Multiple Comparisons p values (2-tailed); число цветков (Сравн_морфол.sta) Independent (grouping) variable: ЦП Kruskal-Wallis test: $H(3, N = 32) = 25,34516, p = 0,0000$						
	ЦП1 R:5,2143	ЦП2 R:16,833	ЦП3 R:16,700	ЦП4 R:28,833			
ЦП1		0,083884	0,077837	0,000036			
ЦП2	0,083884		1,000000	0,091315			
ЦП3	0,077837	1,000000		0,073535			
ЦП4	0,000036	0,091315	0,073535				

Рис. 2. Результаты статистического анализа по сравнительной характеристике числа цветков у особей из ценопопуляций *Adonis villosa* в Республике Алтай в 2023 г.

ЦП *A. villosa*. Три варианта отмечены у представителей из ЦП1–ЦП4. Наибольшим числом вариантов характеризовались особи из ЦП5, у которых выявлено четыре варианта рас-

пределения ISSR-маркеров. Географические расстояния между ЦП у *A. villosa* составляли не более 65 км (табл. 3).

Нами обнаружено высокое сходство по распределению ISSR-маркеров между ЦП *A. villosa*, которое изменялось в пределах 88–99 % (табл. 4), а внутривидовое сходство этого вида достигало 97 %. Различия по этому признаку между популяциями низкое и составило, соответственно, 3 % (рис. 4).

Низкая генетическая дифференциация в ЦП *A. villosa* также наглядно показана на полученной электрофореграмме (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство изученных в 2023 г. морфометрических показателей *A. villosa* характеризовалось средней и высокой изменчивостью, что согласуется с результатами, полученными ранее при проведении нами многолетнего мониторинга по двум морфометрическим показателям.

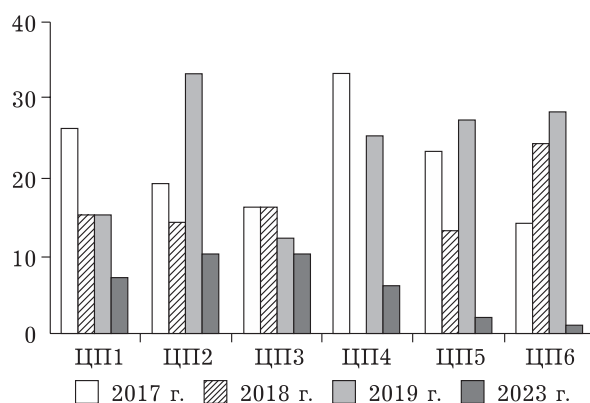


Рис. 3. Динамика числа особей в ЦП *Adonis villosa* в РА в 2017–2023 гг. По горизонтальной оси – номер ценопопуляций, по вертикальной – число особей

Т а б л и ц а 3

Географические расстояния (км) между ЦП *Adonis villosa* в Республике Алтай

№ ЦП	ЦП1	ЦП2	ЦП3	ЦП4	ЦП5	ЦП6
ЦП1	0	–	–	–	–	–
ЦП2	36,4	0	–	–	–	–
ЦП3	30,9	63,6	0	–	–	–
ЦП4	23,0	57,2	8,4	0	–	–
ЦП5	10,9	47,2	25,4	16,9	0	–
ЦП6	6,9	30,2	34,7	27,5	17,7	0

Т а б л и ц а 4

Генетическое сходство в ЦП *Adonis villosa* в Республике Алтай

№ ЦП	ЦП1	ЦП2	ЦП3	ЦП4	ЦП5	ЦП6
ЦП1	1					
ЦП2	0,992928	1				
ЦП3	0,999044	0,997098	1			
ЦП4	0,991608	0,988324	0,992614	1		
ЦП5	0,995612	0,993561	0,996279	0,993747	1	
ЦП6	0,918385	0,884179	0,90974	0,929987	0,895944	1

телям – длине генеративных и числу боковых побегов у особей вида в этих же ЦП [Ачимова и др., 2021]. Отсутствие изменчивости или низкие ее значения у особей вида в исследованных ЦП являются свидетельством генетического контроля данного признака. Корреляционные связи морфометрических признаков в значительной степени позволяют дать оценку согласованности в процессе роста и развития растений [Ростова, 2002]. По литературным данным, длина побега – признак, коррелирующий с большинством других ха-

рактеристик растения [Kleyer et al., 2019]. У *A. villosa* нами выявлена лишь одна значительная положительная связь длины побега, только с облиственностью – признаком, определяющим развитие фотосинтетической поверхности растений.

Численность зрелых генеративных особей в четырех исследованных ЦП *A. villosa* в 2023 г. не превышала 10 особей. Это число значительно меньше по сравнению с указанным в литературных источниках. Численность в ЦП достигала в двух регионах Сибири сотен и тысяч особей [Rosche et al., 2018; Куприянов, 2021]. Согласно проведенным исследованиям, с 2017 г. до настоящего времени число особей во всех изученных ЦП у этого вида снизилось. Отмеченное в 2019 г. повышение числа особей в ряде исследованных ЦП могло быть связано с увеличением числа молодых прегенеративных (имматурных и виргинильных) растений, которое наблюдалось в предыдущие годы исследований (2017–2018 гг.). В 2019 г. эти особи достигли генеративного состояния и были учтены при подсчетах численности. Подобный рост числа особей свидетельствует о наличии определенных резервных

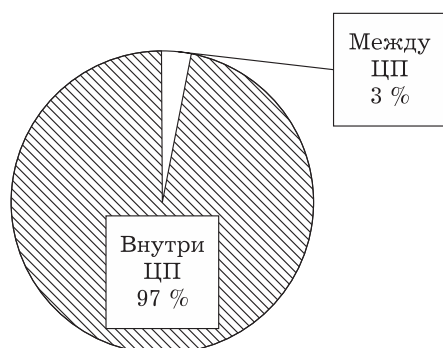
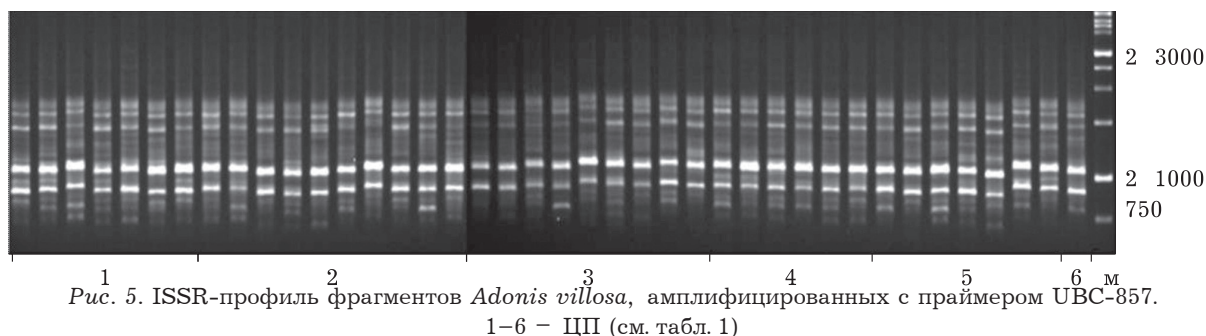


Рис. 4. Результаты анализа молекулярной дисперсии в ценопопуляциях *Adonis villosa* в Республике Алтай



возможностей у представителей вида в данных местообитаниях. На наш взгляд, росту числа особей в изученных ЦП могли способствовать метеоусловия вегетационных периодов 2017–2018 гг., которые характеризовались засушливостью [Ачимова и др., 2021]. У *A. villosa* доля зрелых семян в 2023 г. оказалась сравнительно высокой, изменялась в широких пределах и отличалась у представителей из изученных ЦП в 1,8 раза (см. табл. 2). Выявленное нами достоверное преобладание числа генеративных побегов и цветков у представителей из ЦП4 (Горно-Алтайск) не привело к достоверному увеличению доли зрелых семян у особей из этой ЦП по сравнению с данным показателем у особей из других изученных ЦП.

Высокая доля сформированных полноценных семян в исследованных ЦП *A. villosa* может способствовать хорошему семенному воспроизведению в условиях Северного Алтая в годы с благоприятными погодными условиями.

Согласно литературным данным, центр разнообразия видовой группы рода *Adonis* находится в горных степях Средней и Центральной Азии [Seidl et al., 2022]. Происхождение *A. villosa* из аридных местообитаний позволяет предположить, что данный вид адаптирован к недостатку почвенной влаги, и засушливые периоды вегетации 2017–2018 гг. могли быть благоприятными для прорастания семян, формирования и развития молодых особей этого вида, что и привело к всплеску численности генеративных растений в 2019 г. в изученных местообитаниях Северного Алтая.

Тем не менее такое повышение численности, отмеченное в 2019 г., не привело к их дальнейшему сохранению в ЦП, и в 2023 г. число особей *A. villosa* сократилось. Это связано с прокладкой дороги через исследованные ЦП *A. villosa*, из-за чего большая часть

особей оказалась уничтоженной. Все изученные ЦП расположены в селитебных зонах, и на их территории проводится регулярный выпас, негативное воздействие которого приводит к ухудшению физико-химических показателей почвы. Это показано на модели, иллюстрирующей уплотнение, снижение аэрации и других показателей почвенного покрова в зависимости от интенсивности, истории, продолжительности и типа выпаса [Dopovan et al., 2021]. У редких видов снижение численности особей в популяциях может способствовать гомогенизации их генетической структуры и привести к нарушению внутривидового генетического баланса [Дорогина, Жмудь, 2020].

Согласно литературным данным, полученным при исследовании генетической структуры популяций *Adonis villosa* с помощью AFLP-маркеров в условиях сильно фрагментированной Кулундинской степи (Южная Сибирь), несмотря на сильную фрагментацию, в ЦП *A. villosa* наблюдалось не низкое, а умеренное генетическое разнообразие и слабая дифференциация. Доля полиморфных локусов составила 73,3–85,6 % [Rosche et al., 2018]. Авторы считают способность *A. villosa* к долгосрочному проживанию на определенной территории объяснением того, почему генетические последствия недавней фрагментации вида в этом регионе ограничены и генетическое разнообразие до сих пор остается на уровне умеренного. При проведении исследований генетической структуры популяций редких видов важной задачей является изучение экоэволюционной истории популяций и пространственно-экологической неоднородности во фрагментированных ландшафтах, так как фрагментация среды обитания может привести к существенному генетическому истощению [Rosche et al., 2018].

Выявленную генетическую гомогенность по распределению ISSR-маркеров в популяциях *A. villosa* в Северном Алтае можно объяснить определенной изолированностью представителей из данных ЦП от основного ареала, а также их искусственной фрагментацией. В крайних точках ареалов у растений разнообразие генотипов вида, как правило, снижается из-за естественной элиминации определенной части генотипов неадаптированных особей в экстремальных для вида условиях [Дорогина, Жмудь, 2020].

При анализе расположения исследованных локальных местообитаний в Северном Алтае можно предположить, что *A. villosa* в данном районе существовал в виде единой популяции, которая была разделена на фрагменты при хозяйственном освоении территории. Даже поддержание достаточно высокой численности особей в популяциях редких видов не всегда может гарантировать их устойчивость, а тем более она не гарантирована при неуклонном сокращении их состава [Bernardo et al., 2020; Chapron, López-Bao, 2020]. Поэтому для сохранения этого уязвимого вида актуальным является решение следующих задач: проведение генетической паспортизации ЦП, обеспечение возможности их семенного воспроизведения в естественных условиях, а также введение вида в культуру. Согласно современным представлениям, эффекты фрагментации могут быть тонкими, зависеть от масштаба и географически варьироваться. Осознание этих факторов имеет решающее значение для разработки стратегий сохранения видов, испытывающих утрату и фрагментацию среды обитания на более глобальном, ландшафтном уровне [Valente et al., 2023].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении данного исследования за период 2017–2023 гг. отмечено снижение численности особей в популяциях *A. villosa* в Северном Алтае более чем в 1,5 раза. В настоящее время обнаружена невысокая численность, не превышающая 10 зрелых генеративных особей. Существенную роль в сокращении численности особей в исследованных популяциях играет их искусственная фрагментация, вызванная антропогенным воздействием, так как вид произрастает преимущественно в селитебных зонах. У особей *A. villosa* обнаружено вы-

сокое сходство по распределению ISSR-маркеров между ЦП (88–99 %), а также внутри популяций (97 %). Выявленная генетическая меж- и внутривидовая гомогенность по распределению ISSR-маркеров в популяциях может быть обусловлена определенной изоляцией представителей *A. villosa* от основного ареала видового разнообразия, расположенного в горных районах Средней Азии. Эти данные подтверждают уязвимость *A. villosa* на территории Республики Алтай, а его дальнейшее существование возможно на охраняемой территории при наличии генетического контроля за состоянием фрагментов данной популяции. Для его сохранения актуальными мерами также является проведение генетической паспортизации ЦП, обеспечение возможности их семенного воспроизведения в естественных условиях, а также введение в культуру.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № AAAA-A21-121011290025-2 “Анализ биоразнообразия, сохранение и восстановление редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов”, а также при финансовой поддержке проекта № FSUS-2021-0012 “Экосистемы травяных сосновых и мелколиственных лесов как регуляторы азотного и углеродного баланса в лесостепном ландшафте Западной Сибири”.

Вклад авторов

Жмудь Е. В. – написание текста, статистическая обработка и визуализация результатов морфометрических и генетических исследований; Кубан И. Н. – эксперименты по установлению генетической дифференциации по ISSR-маркерам, обработка результатов, сбор морфометрических данных в полевых условиях; Ачимова А. А. – обеспечение полевых исследований для сбора морфометрических данных и образцов листьев, проведение исследований численности особей в 2017–2019 гг. Папина О. Н. – сбор морфометрических данных в полевых условиях, проведение исследований численности особей *A. villosa* в 2017–2019 гг.; Дорогина О. В. – руководство экспериментальными и полевыми исследованиями, обеспечение финансирования.

Финансирование

Работа выполнена на средства, полученные при финансировании государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № AAAA-A21-121011290025-2 “Анализ

биоразнообразия, сохранение и восстановление редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов”, а также при финансовой поддержке проекта № FSUS-2021-0012 “Экосистемы травяных сосновых и мелколиственных лесов как регуляторы азотного и углеродного баланса в лесостепном ландшафте Западной Сибири”.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Ачимов А. А., Папина О. Н., Жмудь Е. В. Морфологическая изменчивость в ценопопуляциях редкого вида *Adonis villosa* Ledeb. (Ranunculaceae) в Северном Алтае // Самарский науч. вестн. 2021. Т. 10, № 1. С. 24–32. doi: 10.17816/snv2021101103
- Верещагина И. В. *Adonis villosa* Ledeb. – Адонис пушистый. Красная книга Алтайского Края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений. Барнаул: ОАО ИПП “Алтай”, 2006. С. 262.
- Дорогина О. В., Жмудь Е. В. Молекулярно-генетические методы в экологии растений // Сиб. экол. журн. 2020. Т. 27, № 4. С. 416–432. doi: 10.15372/SEJ20200402
- Куприянов А. Н. Стародубка пушистая *Adonis villosa* Ledeb. Красная книга Кузбасса. Т. 1. 3-е изд., перераб. и доп. Кемерово: Вектор-Принт, 2021. С. 86.
- Куприянов А. Н., Манаков Ю. А., Куприянов О. А., Климова О. А. Методические рекомендации по сохранению редких растений каменистых местообитаний методами *ex situ* и *in situ* при добыче полезных ископаемых / ФИЦ угля и углехимии СО РАН. Кемерово: КРЭО “Ирбис”, 2022. 36 с.
- Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- Лесохозяйственный регламент Седельниковского лесничества Омской области (с изменениями на 8 августа 2023 года) (<https://docs.cntd.ru/document/550187608/titles/3HE8S2Q>) (дата обращения: 06.10.2023)
- Мамаев С. А. Основные принципы методики исследования внутривидовой изменчивости древесных растений // Тр. Ин-та экологии растений и животных. Индивидуальная и эколого-географическая изменчивость растений. 1975. Вып. 94. С. 3–6.
- Манаков Ю. А. Стародубка пушистая *Adonis villosa* Ledeb. Красная книга Кемеровской области “Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов”. Том I. Кемерово: Азия принт, 2012. С. 120.
- Набиева А. Ю., Жмудь Е. В., Кубан И. Н., Дорогина О. В. Морфометрический и молекулярный анализ популяции *Cypripedium × ventricosum* (Orchidaceae) в Новосибирской области // Ботан. журн. 2020. Т. 105, № 6. С. 78–85. doi: 10.31857/S0006813620060058
- Науменко Н. И., Васеева М. А. Горлицет пушистый *Adonis villosa* Ledeb. Красная книга Курганской области. Растения. Грибы. Лишайники. Курган: Курган. гос. ун-т, 2012. С. 342.
- Орлов В. П., Ачимов А. А., Папина О. Н. Горлицет пушистый, стародубка пушистая – *Adonis villosa* Ledeb. Семейство Лютиковые – Ranunculaceae // Красная книга Республики Алтай. 3-е изд. перераб. и доп. Горно-Алтайск, 2017. С. 103.
- Папина О. Н., Ачимов А. А. Состояние ценопопуляций *Adonis villosa* Ledeb. в Северном Алтае (Республика Алтай) // Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2016. Т. 10 (144). С. 78–82.
- Пликина Н. В., Ефремов А. Н., Самойлова Г. В. Оценка состояния популяций охраняемых видов растений в Русско-Полянском муниципальном районе Омской области // Вестн. Пермск. ун-та. Биология. 2021. Вып. 3. С. 158–170. doi: 10.17072/1994-9952-2021-3-158-170
- Регламент регионального ботанического заказника “Увалы” Прокопьевского муниципального округа Кузбасса 06.04.2021 г.: <http://www.coal.sbras.ru/> /blog/2021/04/06/%D1%81%D0%BE%D0%B7%D0%B4%D0%B0%D0%BD-%D1%80%D0%B5%D0%B3%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B9-%D0%B1%D0%BE%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9-%D0%B7%D0%B0/ (дата обращения 04.10.2023)
- Ростова Н. С. Корреляции: структура и изменчивость. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. 308 с.
- Свириденко Б. Ф. Адонис пушистый (горлицет пушистый, стародубка пушистая) *Adonis villosa* Ledeb. (*Adonis wolgensis* var. *villosa* Trautv.). Красная книга Омской области. 2-е изд., перераб. и доп. Омск: Изд-во ОмПИУ, 2015. С. 396.
- Bernardo H. L., Goad R., Vitt P., Knight T. M. Nonadditive effects among threats on rare plant species // Conserv. Biol. 2020. Vol. 34, N 4. P. 1029–1034.
- Chapron G., López-Bao J. V. The place of nature in conservation conflicts // Conserv. Biol. 2020. Vol. 34, N 4. P. 795–802.
- Donovan M., Ross M. Impacts of grazing on ground cover, soil physical properties and soil loss via surface erosion: A novel geospatial modelling approach // J. Environ. Manage. 2021. Vol. 287. 112206. doi: 10.1016/j.jenvman.2021.112206
- Kleyer M., Trinogga J., Cebrián-Piqueras M. A., Trenkamp A., Fløjgaard C., Ejrnæs R., Bouma T. J., Minden V., Maier M., Mantilla-Contreras J., Albach D. C., Blasius B. Trait correlation network analysis identifies biomass allocation traits and stem specific length as hub traits in herbaceous perennial plants // J. Ecol. 2019. Vol. 107, N 2. P. 829–842.
- Mann H. B., Whitney D. R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other // The Annals of Mathematical Statistics. 1947. Vol. 18, N 1. P. 50–60.
- Nei M., Li W. H. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1979. Vol. 76. P. 5269–5273. doi: 10.1073/pnas.76.10.5269
- Rosche C., Heinicke S., Hensen I., Silantyeva M. M., Stolz J., Gröning S., Karsten W. Spatio-environmental determinants of the genetic structure of three steppe species in a highly fragmented landscape // Basic and Appl. Ecol. 2018. Vol. 28. P. 48–59. doi: 10.1016/j.baee.2018.02.001
- Schmidt C., Hoban S., Hunter M., Paz-Vinas I., Garro-way C. J. Genetic diversity and IUCN Red List status. 2023. e14064. doi: 10.1111/cobi.14064

Seidl A., Tremetsberger K., Pfanzelt S., Lindhuber L., Kropf M., Neuffer B., Blattner F. R., Király G., Smirnov S. V., Friesen N., Shmakov A. I., Plenk K., Batlai O., Hurka H., Bernhardt K.-G. Genotyping-by-sequencing reveals range expansion of *Adonis vernalis* (Ranunculaceae) from Southeastern Europe into the zonal Euro-Siberian steppe // Sci. Rep. 2022. Vol. 12. 19074. doi: 10.1038/s41598-022-23542-w

The International Plant Names Index and World Checklist of Vascular Plants 2023. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:708159-1> (дата обращения: 05.10.2023).

Valente J. J., Rivers J. W., Yang Z., Nelson S. K., Northrup J. M., Roby D. D., Meyer C. B., Betts M. G. Fragmentation effects on an endangered species across a gradient from the interior to edge of its range // Conserv. Biol. 2023. Vol. 37, N 5. e14075. <https://doi.org/10.1111/cobi.14091>

Variability of morphometric characteristics and genetic differentiation according to ISSR markers in *Adonis villosa* Ledeb. (Ranunculaceae) in the Altai Republic

E. V. ZHMUD¹, I. N. KUBAN¹, A. A. ACHIMOVA², O. N. PAPINA³, O. V. DOROGINA^{1, 4}

¹Central Siberian Botanical Garden of SB RAS
101, Zolotodolinskaya str., Novosibirsk, 630090, Russia
E-mail: elenazhmu@gmail.com

²Altai Branch of the Central Siberian Botanical Garden of SB RAS
“Gorno-Altai Botanical Garden”
Kamlak, Chistyy Lug, Altai Republic, 649218, Russia

³Gorno-Altai State University
1, Lenkin str., Altai Republic, Gorno-Altai, 649000, Russia

⁴Novosibirsk State University
1, Pirogova str., Novosibirsk, 630090, Russia

The abundance and morphogenetic indicators of the *Adonis villosa* Ledeb., a vulnerable species in the Altai Republic (AR), have been studied. For the first time, genetic differentiation in six cenopopulations (CP) of *A. villosa* using ISSR markers and variability of morphometric characters in individuals from four CPs in the AR were revealed. Similarities in the variability of morphometric characters in the studied CPs were revealed, as well as a decrease in the number of mature generative individuals by 1.5–14.0 times over the period from 2017 to 2023. The genetic structure was studied using 6 primers: M 9, UBC 834, UBC 830, UBC 857, UBC 840, UBC 811. Of these, UBC-857 turned out to be the most informative. In representatives of the six studied CPs, we identified four variants in the distribution of ISSR markers, and a high similarity in the distribution of ISSR markers between the *A. villosa* CPs (88–99 %) was found. Intrapopulation similarity among individuals of this species is also high and reached 97 %. The probable reasons for this phenomenon are the small number of mature generative individuals in the CP (no more than 10) and their spatial isolation. In Northern Altai, *A. villosa* individuals have a homogeneous genetic structure, which leads to the vulnerability of this species. This species requires a special approach to conservation in natural conditions and culture.

Key words: fluffy Adonis, fluffy Starodubka, vulnerable species, cenopopulations, genetic polymorphism, parameters of genetic diversity.