



УДК 582.675.1:58.087+575.86(470)

Геометрическая морфометрия и филогенетический анализ таксонов рода *Delphinium* юга России

А. С. Кашин^{1,3*}, А. В. Богослов^{1,4}, А. С. Пархоменко^{1,5}, И. В. Шилова^{1,6},
Т. А. Крицкая^{1,7}, Р. А. Муртазалиев^{2,8}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
ул. Астраханская, д. 83, г. Саратов, 410012, Россия

²Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского ФИЦ РАН,
ул. М. Гаджиева, д. 45, г. Махачкала, 367000, Россия

³E-mail: kashinas2@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

⁴E-mail: dandelioncave@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

⁵E-mail: parkhomenko_as@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

⁶E-mail: schiva1952@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

⁷E-mail: kritskayata@info.sgu.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>

⁸E-mail: murtazaliev.ra@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2895-213X>

* Автор для переписки

Ключевые слова: анализ Байеса, геометрическая морфометрия, канонический анализ, таргетное секвенирование, *Delphinium*.

Аннотация. Методами геометрической морфометрии проанализирована форма листовых пластинок 665 образцов 18 видов рода *Delphinium*. Методом канонического анализа в пределах подрода *Delphinastrum* относительно хорошо отделился *D. elatum* и в несколько меньшей мере *D. uralense*, в то время как *D. litwinowii*, *D. pubiflorum*, *D. duhmbergii*, *D. subcuneatum* фактически не разделились. В пределах подрода *Oligophyllon* этим методом хорошо отделился *D. caucasicum*. Разделились также облака рассеяния точек *D. freynii* + *D. puniceum* + *D. sergii*, с одной стороны, и *D. fedorovii* + *D. gelmetzicum* – с другой. *Delphinium arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*, *D. mariae* между собой не разделились. Характер обособления групповых видовых выборок в пространстве канонических переменных и относительная их близость друг к другу могут быть связаны с экологическим или географическим сходством мест произрастания популяций изученных видов, а также с влиянием гибридационных процессов в зоне вторичного контакта видов. Различия в форме листовых пластинок в основном связаны с шириной сегментов, длинами центрального сегмента средней лопасти и нерасчленённой части листовой пластинки, степенью её рассечения, формой основания, расстоянием между нижними лопастями. Исходя из результатов секвенирования ДНК межгенного транскрибируемого спейсера ITS2, не вызывает сомнений видовая самостоятельность *D. puniceum*, *D. macropogon*, *D. mariae*, *D. samurense* и *D. pubiflorum*. Поддерживается синонимичность *D. freynii* и *D. sergii* с приоритетным названием *D. schmalhauseni*. *Delphinium cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii* и *D. litwinowii* следует считать синонимами с приоритетным названием *D. cuneatum*. Таксономический статус *D. dictyocarpum*, *D. elatum* и *D. uralense* требует дальнейшего уточнения. Это связано, вероятно, с лёгкостью их гибридизации с *D. cuneatum* в симпатрических популяциях в зонах перекрытия ареалов. *Delphinium arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. caucasicum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae*, *D. fedorovii*, *D. flexuosum*, *D. gelmetzicum* и *D. speciosum* плохо разделяются, что также может быть связано с гибридационными процессами. Они нуждаются в более подробном изучении.

Geometric morphometrics and phylogenetic analysis of *Delphinium* taxa from south of Russia

A. S. Kashin¹, A. V. Bogoslov¹, A. S. Parkhomenko¹, I. V. Shilova¹, T. A. Kritskaya¹, R. A. Murtazaliev²

¹ *Saratov State University, Astrakhanskaya St., 83, Saratov, 410012, Russian Federation*

² *Caspian Institute of Biological resources of Daghestan Federal Research Center of RAS,
M. Gadzhieva St., 45, Makhachkala, 367000, Russian Federation*

Keywords: Bayesian analysis, canonical variate analysis, *Delphinium*, geometric morphometrics, targeted sequencing.

Summary. The leaf blade's shape of 665 samples of 18 taxa from the genus *Delphinium* was analyzed using geometric morphometrics method. Within the subgenus *Delphinastrum*, *D. elatum* and, to a lesser extent, *D. uralense* were relatively well separated by canonical analysis, while *D. litwinowii*, *D. pubiflorum*, *D. duhmbergii*, and *D. subcuneatum* were not actually separated. Within the subgenus *Oligophyllon*, *D. caucasicum* was well separated by this method. The scatter clouds of *D. freynii* + *D. puniceum* + *D. sergii* on the one hand, and *D. fedorovii* + *D. gelmetzicum* on the other hand, also separated. *D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*, and *D. mariae* did not separate from each other. The nature of such separation of species groups observed in the space of canonical variables and their relative proximity to each other can be associated with the habitat similarity of their populations driven by ecological or geographical conditions, as well as the influence of hybridization processes in the zone of secondary contact of species. The differences in leaf blade's shape are mainly related to the width of the segments, the lengths of the central segment of the middle lobe and the undissected part of the leaf blade, the degree of its dissection, the shape of the base and the distance between the lower lobes. Based on the results of DNA sequencing of the intergenic transcribed spacer ITS2, the taxonomic independence of *D. puniceum*, *D. macropogon*, *D. mariae*, *D. samurense*, and *D. pubiflorum* is beyond any doubt. The synonymy of *D. freynii* and *D. sergii* is supported, with the priority name of *D. schmalhauseni*. *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii*, and *D. litwinowii* should be considered as synonyms with the priority name of *D. cuneatum*. The taxonomic status of *D. dictyocarpum*, *D. elatum*, and *D. uralense* needs further clarification. This is probably related to their easy hybridization with *D. cuneatum* in sympatric populations within the overlapping areas. *Delphinium arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. caucasicum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae*, *D. fedorovii*, *D. flexuosum*, *D. gelmetzicum*, and *D. speciosum* are poorly separated, which can also be associated with hybridization processes. They need to be studied in more detail.

Введение

Род *Delphinium* L. включает, по разным данным, от 200 (Nevskiy, 1937)–300 (Tzvelev, 2001; Fedorov, 2003) до 365 (Malyutin, 1987; Fedorov, 2003)–519 (Plants of the World Online, 2023) видов. Уже этот разброс представлений о числе видов в роде указывает на то, что в систематике данного рода ещё много неясного и неустоявшегося. При этом до последнего времени, по крайней мере в русскоязычной ботанической литературе, продолжают активно описываться новые виды – в частности, во флорах Кавказа (Lufarov, 2012; Murtazaliev, Lufarov, 2021), Алтая (Ebel, 2006), Сибири (Ebel, 2007; Kurbatskiy, 2017).

Представители рода *Delphinium* распространены в Северном полушарии от умеренно тёплых и субтропических областей до горных районов тропиков (Tzvelev, 2001). Отдельные таксоны рода, такие как *D. elatum* L., *D. dictyocarpum* DC. или *D. cuneatum* Stev. ex DC., весьма широко рас-

пространены как в природе, так и в культуре. Это, как полагают, служит причиной высокой морфологической изменчивости растений в пределах ареалов (Malyutin, 1973, 1987, 1992). В таком случае целая группа близкородственных таксонов с не всегда чёткой экологической и географической дифференциацией, образующих, вероятно, на стыке ареалов переходные формы, рядом исследователей принимается за один вид (Tutin et al., 1993; Fedorov, 2003; Yelenevskiy et al., 2009). Например, Н. И. Фёдоров (Fedorov, 2003) характеризует такие группы как сингамеоны в понимании V. Grant (1981) или Р. В. Камелина (Kamelin, 2009). Однако Н. Н. Цвелёв (Tzvelev, 1996, 2001), напротив, считает таксоны подобных комплексов самостоятельными видами, объединяя в группы, называя последние «агрегатами».

Как следствие, Н. Н. Цвелёв (Tzvelev, 2001) для Восточной Европы указывает 19 видов рода *Delphinium*. Из них 15 относятся к сек-

ции *Delphinastrum* DC. и четыре – к секции *Diedropetala* Huth. В секции *Delphinastrum* им выделены четыре группы: 1) *D. aggr. elatum* L. с пятью видами (*D. elatum*, *D. alpinum* Waldst. et Kit., *D. cryophilum* Nevski, *D. nacladense* Zapal., *D. villosum* Stev.); 2) *D. aggr. cuneatum* Stev. ex DC. с четырьмя видами (*D. cuneatum*, *D. subcuneatum* Tzvel., *D. litwinowii* Sambuk, *D. duhmbergii* Huth); 3) *D. aggr. dictyocarpum* DC. с четырьмя видами (*D. pubiflorum* Turcz., *D. dictyocarpum*, *D. cyananthum* Nevski, *D. uralense* Nevski); 4) *D. aggr. cheilanthum* Fisch. с двумя видами (*D. middendorffii* Trautv., *D. grandiflorum* L.). В секции *Diedropetala* он объединяет в группу *D. aggr. fissum* Waldst. et Kit. три вида (*D. leiocarpum* Huth, *D. pallasii* Nevski, *D. sergii* Wissjul.), оставляя самостоятельным *D. puniceum* Pall.

При таком понимании объёма видов в пределах юго-восточной части европейского ареала рода произрастают, например, 10 видов. Из секции *Delphinastrum* полностью представлена группа *D. aggr. cuneatum*: *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. litwinowii*, *D. duhmbergii*; более половины видов из группы *D. aggr. dictyocarpum*: *D. pubiflorum*, *D. dictyocarpum*, *D. uralense*; один вид из группы *D. aggr. elatum*: *D. elatum*. Из секции *Diedropetala* встречаются два вида – эндемичный *D. sergii* из группы *D. aggr. fissum* и *D. puniceum*.

Однако во «Флоре Европы» (Tutin et al., 1993) *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. litwinowii*, *D. duhmbergii* отнесены к одному виду с приоритетным названием *D. cuneatum*. *Delphinium pubiflorum* и *D. dictyocarpum* отнесены к *D. dictyocarpum* DC. ssp. *dictyocarpum*, а *D. uralense* – к *D. dictyocarpum* DC. ssp. *uralense*. При этом *D. sergii* не выделен из *D. schmalhauseni* Albov. При таком понимании в пределах исследованной части ареала рода произрастают только 5 видов: из секции *Delphinastrum* – *D. cuneatum*, *D. dictyocarpum* и *D. elatum*; из секции *Diedropetala* – *D. schmalhauseni* и *D. puniceum*.

В понимании Н. И. Малютина (Malyutin, 1987), в пределах юго-восточной части европейского ареала рода произрастают 8 видов: из секции *Delphinastrum* – *D. elatum*, *D. cuneatum*, *D. litwinowii*, *D. iliense* Huth. (= *D. duhmbergii*), *D. dictyocarpum*; из секции *Koloboretala* Huth – *D. grandiflorum* (= *D. pubiflorum*); из секции *Oligophyllon* Dimitrova – *D. schmalhauseni* (= *D. sergii*) и *D. puniceum*. При этом число и объём секций, принятых у данного автора, не совпадает с таковыми у Т. Г. Tutin et al. (1993) и Н. Н. Цвелёва (Tzvelev, 2001).

Противоречивая картина получена и при использовании молекулярно-генетических методов анализа последовательностей фрагментов ядерной и хлоропластной ДНК, предпринятого для реконструкции филогении секции *Diedropetala* рода *Delphinium* в пределах североамериканской части её ареала (Koontz et al., 2009). Использованный авторами метод максимальной экономии в пределах построенного консенсусного филогенетического дерева по последовательностям ДНК образцов 62 из 67 видов выявил незначимую бутстреп поддержку и слабое разрешение многих из исследованных таксонов секции.

Филогенетические отношения в другой крупной секции *Delphinastrum* подвергались исследованию с использованием молекулярно-генетических маркёров только в рамках анализа филогении трибы *Delphinieae* (Warm.) Schröd. (Jabbour, Renner, 2011, 2012). При этом были использованы образцы 54 из 150 видов данной секции. Из таксонов, являющихся предметом настоящего исследования, были взяты только по одному гербарному образцу *D. elatum* (Урал) и *D. cuneatum* (Самарская обл.). При анализе пластидных и ядерных последовательностей (ITS1-5.8S-ITS2 и trnL-trnF) методом максимального правдоподобия эти виды не разделились, хотя по представлениям Н. И. Малютина (Malyutin, 1987), они относятся к разным подсекциям секции *Delphinastrum*, а по представлениям Н. Н. Цвелёва (Tzvelev, 2001) – к разным агрегатам. Во «Флоре Европы» (Tutin et al., 1993) они указаны как самостоятельные виды.

Нами ранее на основе методов нумерического и филогенетического анализов (nrITS barcode) проведено уточнение таксономического статуса 10 видов *Delphinium* (*D. cuneatum*, *D. dictyocarpum*, *D. duhmbergii*, *D. elatum*, *D. litwinowii*, *D. pubiflorum*, *D. puniceum*, *D. sergii*, *D. subcuneatum*, *D. uralense*), произрастающих на юго-востоке Европейской России. Анализ неметрического многомерного шкалирования (NMDS) по совокупности 54 морфологических признаков достоверно разделяет только *D. puniceum*, *D. sergii*, *D. uralense* и *D. pubiflorum* при фактической неразделённости остальных видов. Метод «Random forest» и филогенетический анализ последовательностей ITS региона методом MrBayes указывают на видовую самостоятельность *D. puniceum* из секции *Diedropetala*, а также *D. elatum*, *D. uralense*, *D. dictyocarpum* и *D. pubiflorum* из секции *Delphinastrum*. По резуль-

татам анализа однозначно синонимичными являются *D. litwinowii*, *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii* с приоритетным названием *D. cuneatum*. Показано, что большую проблему для таксономии исследованных видов секции *Delphinastrum* составляют наличие множества переходных или гибридных форм в районах контактов их ареалов и зависимость проявления морфологических признаков, в том числе и таксономически значимых, от погодных и природно-климатических условий (Kashin et al., 2021).

Методы геометрической морфометрии нашли широкое применение в ботанике. Много исследований посвящено именно выяснению специфики изменчивости форм тех или иных структурных элементов разных видов (Conesa et al., 2012; Mijnsbrugge et al., 2016; Chitwood, Otoni, 2017; Miljković et al., 2019; Neto et al., 2019; Márquez et al., 2021; Strelin et al., 2021). Однако до последнего времени отсутствуют работы по геометрической морфометрии представителей рода *Delphinium*. Исключение составляет только исследование, посвящённое формообразованию цветочных структур у *Delphinieae* (Chen et al., 2018). Кроме того, следует указать работы по исследованию формы листовых пластинок у комплекса *Ranunculus auricomus* L., относящегося, как и род *Delphinium*, к семейству Ranunculaceae (Hodač et al., 2018; Karbstein et al., 2020).

Цель настоящей работы состояла в уточнении таксономического статуса и филогенетических отношений *Delphinium* Северного Кавказа и юго-востока Европейской России по результатам анализа изменчивости формы листовой пластинки и молекулярно-генетического полиморфизма.

Материал и методы

Всего исследовано 79 популяций 23 таксонов рода *Delphinium* Северного Кавказа и юго-востока Европейской России (рис. 1).

Геометрическая морфометрия. Для геометрической морфометрии использованы листовые пластинки 665 образцов из 38 популяций 18 таксонов рода *Delphinium* Европейской России (табл. 1, рис. 1). Во флоре юго-востока Европейской России материал был собран в период с 2017 по 2020 гг. из девяти популяций *D. litwinowii*, шести популяций *D. pubiflorum*, трёх популяций *D. puniceum*, по одной популяции – *D. dictyocarpum*, одной *D. duhmbergii*, *D. sergii*, *D. subcuneatum*. Во флоре Северного

Кавказа материал был собран в 2021 г. из четырёх популяций *D. flexuosum* M. Bieb, трёх популяций *D. crispulum* Rupr., по одной из популяций *D. arcuatum* N. Busch, *D. bracteosum* Somm. et Lev., *D. caucasicum* C. A. Mey, *D. fedorovii* Dimitrova, *D. freynii* Conrath, *D. gelmetzicum* Dimitrova, *D. mariae* N. Busch. Кроме того, в анализе были использованы листовые пластинки из гербарных сборов генеративных растений популяций Южного Урала, собранных Н. И. Фёдоровым. Использовались листовые пластинки растений из одной популяции *D. elatum* и одной популяции *D. uralense*, собранных в 1997 г.

Для анализа использовались наиболее типичные для конкретного таксона листовые пластинки из середины побега растений зрелого генеративного состояния. В анализе использовались от 7 до 30 образцов из каждой популяции. Отсканированные изображения были скомпилированы вместе, после чего с помощью программного пакета «tpsUtil» был собран TPS файл (Vasil'ev et al., 2018). С помощью него в программе «tpsDig2» было расставлено по 30 меток-ландмарок. Учитывая сложность формы листовой пластинки, в двух последующих вариантах анализа было расставлено по 66 и 84 метки-ландмарки соответственно (рис. 2). Однако увеличение числа меток-ландмарок принципиально не изменили результатов анализа. Ландмарки были размещены таким образом, чтобы зафиксировать все основные морфологические особенности (признаки) формы листовой пластинки и её элементов – ширину сегментов, расстояние между нижними лопастями, характер и степень рассечения, форму основания листовой пластинки. При этом в расстановке меток принимали во внимание схему, ранее применённую для *Ranunculus auricomus* (Hodač et al., 2018; Karbstein et al., 2020), относительно близкого к *Delphinium*.

В результате расстановки меток-ландмарок были получены их «сырые» координаты. Далее в программе «MorphoJ» исходные координаты были преобразованы посредством генерализованного Прокрустова анализа с помощью соответствующей процедуры «Procrustes fit» (Klingenberg, 2011).

Кроме того, были получены усреднённые каркасные формы по двум используемым в анализе генеральным выборкам – таксонов подрода *Delphinastrum* и подрода *Oligophyllon*. По такому же принципу были созданы каркасы, описывающие среднюю форму листовых пластинок в видовых выборках.

Таблица 1

Исследованные популяции различных таксонов рода *Delphinium* и коды доступа к их секвенированным последовательностям ДНК в базе данных GenBank

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|--|--------|---|-----------------|-------------------|---------------------|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| Подрод <i>Delphinastrum</i> (DC.) Peterm. | | | | | |
| <i>Delphinium sineatum</i> Stev. ex DC. | | | | | |
| 1 | C-1-1 | Ульяновская обл., Инзенский р-н, м/у с. Дракино и Коржевка | 54°11'11.6" | 46°24'27.3" | MT137573 |
| | C-1-2 | | | | MT137574 |
| | C-1-3 | | | | MT137575 |
| 2 | C-2-1 | Республика Марий-Эл, Новоторъяльский р-н, окр. с. Лобаны | 56°58'13.4" | 48°28'42.8" | MT137565 |
| 3 | C-3-1 | Самарская обл., Исаковский р-н, окр. с. Исаклы | 54°6'53.2" | 51°29'40.3" | MT137572 |
| 4 | C-4-1 | Самарская обл., Сергиевский р-н, окр. п. Серноводск | 53°56'4" | 51°13'8.3" | MT137576 |
| 5 | C-5-1 | Самарская обл., Борский р-н, НП «Бузулукский бор» | 52°59'9.1" | 51°59'41.1" | MT137569 |
| | C-5-2 | | | | MT137570 |
| | C-5-3 | | | | MT137571 |
| 6 | C-6-1 | Республика Удмуртия, Алнашский р-н, с. Варзи-Ятчи | 56°7'8.4" | 52°49'37.5" | MT137566 |
| | C-6-2 | | | | MT137567 |
| | C-6-3 | | | | MT137568 |
| 7 | C-7-1 | Республика Башкортостан, Туймазинский р-н, оз. Кандрыкуль | 54°29'5" | 54°7'30" | MT137562 |
| | C-7-2 | | | | MT137563 |
| | C-7-3 | | | | MT137564 |
| 8 | C-8-1 | Республика Башкортостан, Чишминский р-н, окр. с. Кара-Якупово | 54°33'51.7" | 55°30'30.5" | MT137577 |
| <i>Delphinium dictyosarprum</i> DC. | | | | | |
| 9 | Dc-1-1 | Оренбургская обл., Бузулукский р-н, окр. с. Карачево | 53°6'53.4" | 52°17'19.1" | MT137584 |
| 10 | Dc-2-1 | Оренбургская обл., Тюльганский р-н, м/у п. Тюльган и с. Ташла | 52°22'12.2" | 56°11'2.9" | – |
| 11 | Dc-3-1 | Республика Башкортостан, Аургазинский р-н, р. Аургазы | 54°8'22" | 55°36'21" | MT137581 |
| | Dc-3-2 | | | | MT137582 |
| | Dc-3-3 | | | | MT137583 |
| 12 | Dc-4-1 | Республика Башкортостан, Ишимбайский р-н, гора Трагау | 53°32'36.4" | 56°6'29.3" | MT137578 |
| | Dc-4-2 | | | | MT137579 |
| | Dc-4-3 | | | | MT137580 |
| 13 | Dc-5-1 | Республика Башкортостан, Баймакский р-н, окр. с. Акмурун | 52°31'41.9" | 58°10'8.3" | MT137585 |

Таблица 1 (продолжение)

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|-------------------------------------|----------------------------|---|-----------------|-------------------|----------------------------------|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| <i>Delphinium duhbergii</i> Huth | | | | | |
| 14 | Dm-1-1 Dm-1-2 Dm-1-3 | Воронежская область, Таловский р-н, окр. ст. Галовая | 51°4'27.5" | 40°46'43.9" | MT137586 MT137587 MT137588 |
| <i>Delphinium elatum</i> L. | | | | | |
| 15 | E-1-1 E-1-2 E-1-3 | Самарская обл., Челно-Вершинский р-н, окр. с. Токмакла | 54°20'7.8" | 51°10'12.1" | MT137598 MT137599 MT137600 |
| 16 | E-2-1 E-2-2 E-2-3 | Самарская обл., Исакинский р-н, окр. с. Исаклы | 54°6'53.2" | 51°29'40.3" | MT137592 MT137593 MT137594 |
| 17 | E-3-1 E-3-2 E-3-3 | Самарская обл., Борский р-н, НП «Бузулукский бор» | 52°59'9.1" | 51°59'41.1" | MT137595 MT137596 MT137597 |
| 18 | E-4-1 | Республика Башкортостан, Белорецкий р-н, окр. д. Баскан | 53°55'43.2" | 57°57'43.6" | MT137604 |
| 19 | E-5-1 | Республика Башкортостан, Иглинский р-н, окр. с. Тавтиманово | 54°54'21.5" | 56°39'11.3" | MT137602 |
| 20 | E-6-1 E-6-2 E-6-3 | Республика Башкортостан, Архангельский р-н, окр. д. Азово | 54°28'6" | 57°5'13" | MT137589 MT137590 MT137591 |
| 21 | E-7-1 | Республика Башкортостан, Учалинский р-н, окр. д. Ягудино | 54°1'29.4" | 59°5'21.2" | MT137601 |
| 22 | E-8-1 | Республика Башкортостан, Баймакский р-н, окр. с. Губинский | 52°54'20.3" | 58°14'18.1" | MT137603 |
| <i>Delphinium litwinowii</i> Sambuk | | | | | |
| 23 | L-1-1 L-1-2 L-1-3 | Воронежская обл., Острогожский р-н, окр. д. Владимировка | 50°39'43.6" | 39°0'57.4" | MT137617 MT137618 MT137619 |
| 24 | L-2-1 | Тамбовская обл., Тамбовский р-н, окр. с. Орловское | 52°33'56.8" | 41°11'44.7" | – |
| 25 | L-3-1 | Пензенская обл., Пензенский р-н, окр., с. Поперечное | 52°59'36.3" | 44°20'1.2" | – |
| 26 | L-4-1 | Пензенская обл., Кольшлейский р-н, окр. х. Островцы | 52°49'41.6" | 44°28'10" | – |
| 27 | L-5-1 L-5-2 L-5-3 | Пензенская обл., Лунинский р-н, окр. с. Большой Вьяс | 53°51'31" | 45°28'26.6" | MT137623 MT137624 MT137625 |

Таблица 1 (продолжение)

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|--|----------------------------------|--|-----------------|-------------------|--|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| 28 | L-6-1 | Пензенская обл., Никольский р-н, окр. с. Коржевка | 53°44'0.9" | 46°15'32.5" | – |
| 29 | L-7-1 | Ульяновская обл., Инзенский р-н, окр. с. Валгуссы | 54°4'41.1" | 46°11'24.8" | – |
| 30 | L-8-1 L-8-2 L-8-3 | Республика Мордовия, Дубенский р-н, окр. с. Енгальчево, заказник «Лашинский склон» | 54°18'28.1" | 46°25'36.5" | MT137611 MT137612 MT137613 |
| 31 | L-9-1 L-9-2 L-9-3 | Республика Мордовия, Ромодановский р-н, окр. с. Болтино | 54°29'4.9" | 45°32'36.3" | MT137620 MT137621 MT137622 |
| 32 | L-10-1 L-10-2 L-10-3 | Ульяновская обл., Карсунский р-н, окр. с. Котяково | 54°16'58.4" | 46°43'43.2" | MT137605 MT137606 MT137607 |
| 33 | L-11-1 L-11-2 L-11-3 | Ульяновская обл., Вешкаймский р-н, окр. с. Зимнёнки | 54°2'21.5" | 46°54'47.1" | MT137614 MT137615 MT137616 |
| 34 | L-12-1 L-12-2 L-12-3 | Ульяновская обл., Майнский р-н, окр. с. Случ | 54°19'3.1" | 47°48'49.4" | MT137608 MT137609 MT137610 |
| 35 | L-13-1 | Ульяновская обл., Чердаклинский р-н, м/у с. Петровское и Богдашкино | 54°23'32.8" | 49°2'50" | – |
| <i>Delphinium pubiflorum Turcz.</i> | | | | | |
| 36 | P-1-1 P-1-2 P-1-3 P-1-4 | Тамбовская обл., Инжавинский р-н, окр. с. Екатеринополье | 52°16'18.2" | 42°52'8.6" | MT137626 MT137627 MT137628 MT137629 |
| 37 | P-2-1 | Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Каменка | 50°42'52.5" | 45°16'33.7" | – |
| 38 | P-3-1 P-3-2 P-3-3 | Саратовская обл., Тагильский р-н, окр. д. Ильиновка | 51°41'13.8" | 45°41'21.5" | MT137630 MT137631 MT137632 |
| 39 | P-4-1 | Ульяновская обл., Новоспасский р-н, окр. с. Новая Лава | 53°3'23.2" | 47°34'46.3" | MT137639 |
| 40 | P-5-1 | Ульяновская обл., Радищевский р-н, окр. п. Премячий | 52°59'48.3" | 47°42'14.9" | – |

Таблица 1 (продолжение)

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|---|--------|---|-----------------|-------------------|------------------------|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| 41 | P-6-1 | Ульяновская обл., Радищевский р-н, окр. д. Белогоровка | 52°47'37.2" | 47°47'22.5" | MT137633 |
| | P-6-2 | | | | MT137634 |
| | P-6-3 | | | | MT137635 |
| 42 | P-7-1 | Саратовская обл., Хвалынский р-н, окр. с. Акатная Маза | 52°24'20" | 47°41'32" | MT137636 |
| | P-7-2 | | | | MT137637 |
| | P-7-3 | | | | MT137638 |
| <i>Delphinium subcuneatum</i> Tzvel. | | | | | |
| 43 | S-1-1 | Самарская обл., Красноярский р-н, окр. с. Б. Каменка | 53°35'17" | 50°35'58.4" | MT137640 |
| | S-1-2 | | | | MT137641 |
| | S-1-3 | | | | MT137642 |
| <i>Delphinium uralense</i> Nevski | | | | | |
| 44 | U-1-1 | Республика Башкортостан, Зианчуринский р-н, окр. д. Худобандино | 52°09'50.5" | 57°1'33.2" | MT137646 |
| | U-1-2 | | | | MT137647 |
| | U-1-3 | | | | MT137648 |
| 45 | U-2-1 | Республика Башкортостан, Зианчуринский р-н, окр. д. Верхний Муйнак | 52°0'50.7" | 56°57'23" | MT137643 |
| | U-2-2 | | | | MT137644 |
| | U-2-3 | | | | MT137645 |
| 46 | U-3-1 | Республика Башкортостан, Зианчуринский р-н, окр. д. Каргала | 52°7'32.6" | 57°5'9.9" | MT137649 |
| | U-3-2 | | | | MT137650 |
| | U-3-3 | | | | MT137651 |
| Подрод <i>Oligophyllon</i> Dimitrova | | | | | |
| <i>Delphinium arcuatum</i> N. Busch | | | | | |
| 47 | Ar-1-1 | Республика Дагестан, Докузпаринский р-н, м/у с. Текипиркент и Куруш | 41°17'23.1" | 47°50'13" | ON622677 |
| <i>Delphinium bracteosum</i> Somm. et Lev. | | | | | |
| 48 | Bg-1-1 | Республика Дагестан, Агульский р-н, окр. с. Чираг-Кара | 41°49'43.3" | 47°28'52.8" | ON622678 |
| 49 | Bg-2-1 | Республика Дагестан, Акушинский р-н, окр. с. Ниж. Мулебхи | 42°19'30.2" | 47°34'11.3" | ON622679 |
| 50 | Bg-3-1 | Республика Дагестан, Лакский р-н, окр. п. Кума | 41°47'56" | 47°27'52.8" | ON622680 |
| <i>Delphinium saucasicum</i> C. A. Mey. | | | | | |
| 51 | Sa-1-1 | Республика Дагестан, Докузпаринский р-н, окр. с. Куруш | 41°14'51.1" | 47°48'6.7" | ON622681 |

Таблица 1 (продолжение)

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|--|--------|--|-----------------|-------------------|------------------------|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| <i>Delphinium crispulum</i> Rupr. | | | | | |
| 52 | Cr-1-1 | Республика Дагестан, Гунибский р-н, северо-восточный склон Гунибского плато (фиолетовая форма) | 42°24'32.6" | 46°54'30.3" | ON622682 |
| 53 | Cr-2-1 | Республика Дагестан, Гунибский р-н, восточный склон Гунибского плато (белая форма) | 42°25'8.2" | 46°53'9.2" | ON622683 |
| 54 | Cr-3-1 | Республика Дагестан, Боллихский р-н, восточный берег оз. Казеной-ам | 42°46'43.2" | 46°9'21.5" | ON622684 |
| 55 | Cr-4-1 | Республика Дагестан, Унцуккульский р-н, окр. с. Аракани | 42°36'53.5" | 47°3'25.3" | ON622685 |
| 56 | Cr-5-1 | Республика Дагестан, Хунзахский р-н, окр. с. Ахалчи | 42°35'8.1" | 46°38'7.3" | – |
| <i>Delphinium elisabethae</i> N. Busch | | | | | |
| | El-1-1 | Республика Карачаево-Черкессия, Зеленчукский р-н, долина р. Маруха, сосновый лес | | | |
| 57 | El-1-2 | (гербарий LE) | 43°44'49.7" | 41°38'45.3" | ON622686 |
| <i>Delphinium fedorovii</i> Dimitrova | | | | | |
| 58 | Fd-1-1 | Республика Дагестан, Тляринский р-н, Заповедник Тляринский | 41°58'11.9" | 46°30'32.8" | ON622687 |
| 59 | Fd-2-1 | Республика Дагестан, Тляринский р-н, восточный склон ущелья р. Махчалор | 41°56'44.7" | 46°31'25.2" | ON622688 |
| <i>Delphinium flexuosum</i> M. Bieb. | | | | | |
| 60 | Fl-1-1 | Республика Дагестан, Докузпаринский р-н, м/у с. Текипиркент и Куруш | 41°19'50" | 47°52'10.9" | ON622689 |
| 61 | Fl-2-1 | Республика Дагестан, Боллихский р-н, оз. Казеной-ам | 42°46'51.7" | 46°9'21.5" | ON622690 |
| 62 | Fl-3-1 | Республика Дагестан, Хасавюртовский р-н, окр. с. Слух | 42°35'33.7" | 46°33'17.5" | – |
| 63 | Fl-4-1 | Республика Дагестан, Унцуккульский р-н, окр. с. Аракани | 42°37'5.8" | 47°444.5" | – |
| <i>Delphinium freynii</i> Conrath | | | | | |
| 64 | Fr-1-1 | Республика Дагестан, Буйнакский р-н, по дороге к тоннелю на опушке леса | 42°47'25.4" | 46°59'15.1" | ON622691 |
| 65 | Fr-2-1 | Республика Дагестан, Кизилортовский (Казбековский) р-н, окр. п. Дубки | 43°1'22.3" | 46°50'54.4" | ON622692 |
| 66 | Fr-3-1 | Республика Дагестан, Казбековский р-н, окр. п. Пионерный | 43°2'24.9" | 46°51'34.7" | ON622693 |
| <i>Delphinium gelmetzicum</i> Dimitrova | | | | | |
| 67 | Gl-1-1 | Республика Дагестан, Рутульский р-н, окр. с. Джиных, на берегу р. Самур | 41°40'4.2" | 47°3'5.2" | ON622694 |
| 68 | Gl-2-1 | Республика Дагестан, Ахтынский р-н, окр. с. Хнов, ущ. Джавган-Дере | 47°27'9.9" | 47°28'37.7" | ON622695 |
| <i>Delphinium macrogon</i> Prokh. | | | | | |
| 69 | Mc-1-1 | Республика Дагестан, окр. г. Махачкала, на запад по трассе | 42°56'14.4" | 47°22'4.9" | ON622697 |

Таблица 1 (окончание)

| № | ID* | Географическое расположение | Координаты | | Код доступа GenBank |
|--|------------------|--|-----------------|-------------------|------------------------|
| | | | Северная широта | Восточная долгота | |
| <i>Delphinium mariae</i> N. Busch | | | | | |
| 70 | Mг-1-1 | Республика Дагестан, Акушинский р-н, окр. с. Гумрахи, на берегу р. Акуша | 42°14'14.2" | 47°20'18.3" | ON622696 |
| <i>Delphinium puniceum</i> Pall. | | | | | |
| 71 | Pн-1-1 | Ростовская обл., Морозовский р-н, окр. х. Грузинов | 48°27'36.7" | 41°42'48.6" | MT137559 |
| 72 | Pн-2-1 | Республика Калмыкия, Малодербетовский р-н, окр. с. Плодовитое | 47°35'34" | 44°23'57.3" | MT137556 |
| 73 | Pн-3-1 | Астраханская обл., Ахтубинский р-н, юго-восточный склон г. Б. Богдо | 48°8'25.9" | 46°51'29.5" | MT137557 |
| 74 | Pн-4-1 | Волгоградская обл., Палласовский р-н, окр. оз. Эльтон | 49°12'53.3" | 46°41'51.6" | MT137558 |
| 75 | Pн-5-1 Pн-5-2 | Волгоградская обл., Дубовский р-н, окр. х. Полунино | 49°38'51.5" | 44°55'19.8" | MT137560 MT137561 |
| <i>Delphinium samurense</i> Murtazaliev et Lufarov | | | | | |
| 76 | Sm-1-1 Sm-1-2 | Республика Дагестан, Рутульский р-н, окр. с. Джинных | 41°40'34" | 47°2'18.6" | ON622699 ON622698 |
| <i>Delphinium sergii</i> Wissjul. | | | | | |
| 77 | Sg-1-1 | Воронежская обл., Калачеевский р-н, окр. х. Рассоховатое | 50°25'51.4" | 40°31'47.4" | ON622700 |
| <i>Delphinium speciosum</i> M. Bieb. | | | | | |
| 78 | Sp-2-1 | Республика Дагестан, Курахский р-он, окр. с. Хвередж | 41°41'54.1" | 47.630222 | ON622702 |
| <i>Delphinium speciosum</i> var. <i>ironogium</i> (M. Bieb.) N. Busch | | | | | |
| 79 | Sp-1-1 | Республика Карачаево-Черкессия, ущ. Средняя Эрмани (гербарий LE, собр. и опр. Е. и Н. Буш) | 43°29'29.1" | 41°5'35.5" | ON622701 |

Примеч.: * – первая цифра после буквенного индекса соответствует номеру популяции, вторая – номеру особи. Проверк в ячейке означает отсутствие данных.

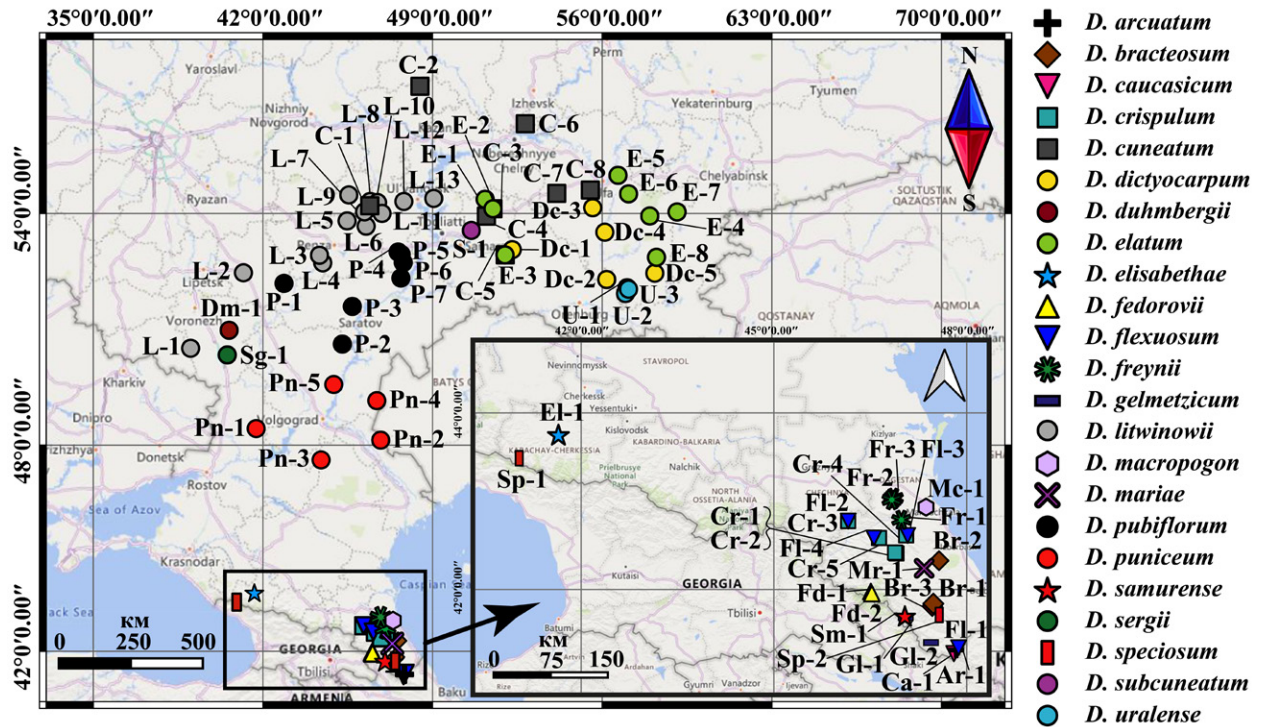


Рис. 1. Географическое расположение исследованных популяций *Delphinium*. Условные обозначения см. табл. 1.

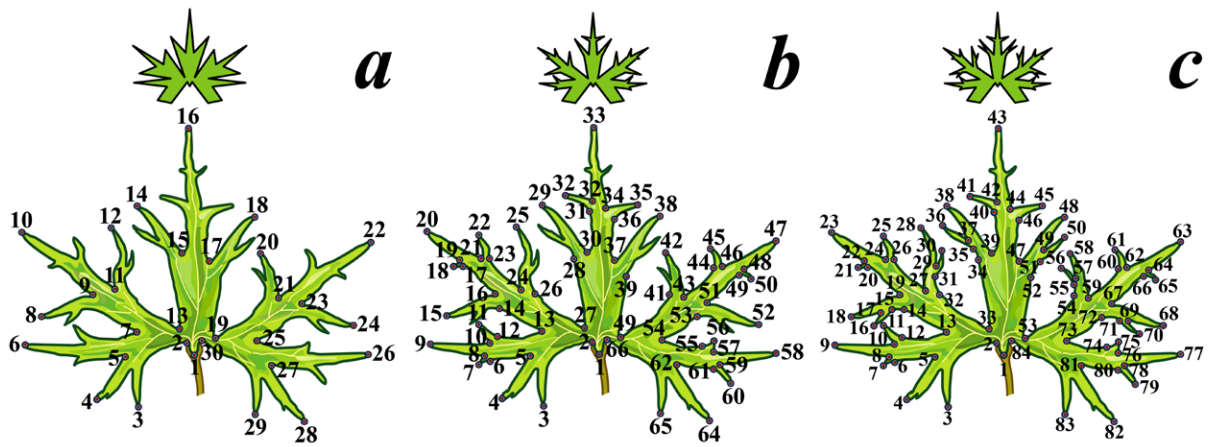


Рис. 2. Схема расстановки 30(a), 66(b) и 84(c) меток-ландмарков на листовой пластинке растения из рода *Delphinium*.

Ординация точек, отвечающих формам листовых пластинок *Delphinium*, была выполнена посредством канонического дискриминантного анализа (CVA). Кроме того, в векторном графическом редакторе были собраны схемы, дающие представление о трансформации формы листовых пластинок при изменении значений той или иной оси. Использовались каркасные изображения, полученные в программе «MorphoJ». Также по значениям дистанций расстояния Махаланобиса, был проведён кластерный анализ с использованием метода невзвешенного попарного

среднего (UPGMA). Число бутструп-перестановок при этом составило 10000.

Был проведён регрессионный анализ с целью выяснения зависимости формы от размера листовой пластинки. Последнее необходимо для достоверного установления наличия аллометрии (Klingenberg, 2022). В качестве зависимой переменной (отклика) в данном случае были использованы Прокрустовы координаты, а в качестве независимой (предиктора) – логарифм размера центроида, предварительно высчитанного.

Для выявления возможного влияния флуктуирующей и направленной асимметрии листовой пластинки на вариацию формы использовали Прокрустов дисперсионный анализ (Procrustes ANOVA). Все расчёты и визуализация результатов были выполнены с помощью программных пакетов «Past 4.03» (Hammer, 2001) и «MorphoJ 1.07» (Klingenberg, 2011).

Молекулярно-генетический анализ. ДНК выделяли из листьев или листочков околоцветника, высушенных в силикагеле, с использованием набора «NucleoSpin® Plant II» (MACHEREY-NAGEL, Germany) согласно протоколу производителя.

Ранее для анализа выборки из образцов девяти видов, произрастающих на юго-востоке Европейской России (без Северного Кавказа), использовали полный межгенный транскрибируемый спейсер (ITS1-5.8S-ITS2) рибосомальной ДНК (Kashin et al., 2021). В работе с кавказскими видами возникли трудности со спейсером ITS1, поскольку эта область не амплифицировалась ни одним из возможных праймеров (ITS-1, ITS-5, (White et al., 1990); ITS-A, ITS-SF (Blattner, 1999); NNC-18S10 (Wen, Zimmer 1996); ITS-FD (Balthazar et al., 2000). По-видимому, у этих видов (кроме *D. caucasicum*, *D. macropogon* Prokh. и *D. mariae*, у которых весь регион ITS1-5.8S-ITS2 воспроизводился нормально) ITS1 содержит протяжённую делецию, которая препятствует отжигу праймера. Поэтому для работы с этими видами использовали только область ITS2, которую амплифицировали при помощи праймеров ITS-3 и ITS-4 (White et al., 1990).

Секвенирование десяти некодирующих и потенциально высоко варьируемых регионов хлДНК (cpDNA): *ndhC-trnV*, *ndhF*, *petA-psbJ*, *psbE-petL*, *trnT-psbD* (Dong et al., 2012), *trnC-petN* (Lee, Wen, 2004) и *trnL-trnF*, *trnH-psbA*, *trnS-trnG*, *matK* (Jabbour et al., 2012) оказалось неинформативным (перечисленные регионы содержали единичные замены либо были полностью идентичны). Поэтому филогенетический анализ проводили только по ITS2.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в объёме 50 µl. Реакционная смесь содержала 10 µl готовой реакционной смеси MaGMix (по 200 µM каждого dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 1,5 ед. SmarTaqDNA-полимеразы и буфер; Dialat Ltd., Москва, Россия), 35 µl деионизированной воды, 3,4 pmol каждого праймера и 5 µl исходной ДНК. ПЦР проводили в амплификаторе Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany) по следующему

алгоритму: изначальная денатурация в течение 5 мин при 95 °C, затем 35 циклов по 30 сек при 95 °C, 30 сек при 55 °C и 2 мин при 72 °C, с финальной элонгацией в течение 10 мин при 72 °C. Продукты ПЦР были очищены на агарозном геле и элюированы при помощи NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up kit (MACHEREY-NAGEL, Germany).

Секвенирование проводили на секвенаторе «ABI PRISM 3130 XL» с использованием набора реактивов «BIG DYE TERMINATOR kit ver. 3.1» согласно протоколу производителя на базе компании «Синтол» (Москва, Россия).

Прямые и обратные последовательности редактировали и выравнивали вручную в программе «BioEdit 7.0.5.3» (Hall, 1999). Полученные последовательности ДНК депонированы в базе данных «GenBank» (табл. 1). В анализ также были включены последовательности нескольких образцов *Aconitum* L. и *Consolida* (DC.) S. F. Gray, импортированные из GenBank, в качестве внешних групп.

Полученную матрицу анализировали методом Байеса с использованием «MrBayes 3.1.23» (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). Модель эволюции последовательностей оценивали с помощью информационного критерия Акаике (AIC) с использованием «jModeltest 3.7» (Darrriba et al., 2012). Два независимых цикла с четырьмя марковскими цепями были проведены в течение 10 миллионов поколений с отбором каждые 100 деревьев. «Выгоревших деревьев» не оказалось, поэтому все деревья были объединены в один набор данных и получено дерево консенсуса по правилу большинства. Байесовские апостериорные вероятности были рассчитаны для этого дерева в «MrBayes 3.1.23».

Результаты исследований

Исследование методами геометрической морфометрии. Анализ проводили отдельно для каждого из двух подродов (в понимании Н. И. Малиютина (Malyutin, 1987)).

Подрод *Delphinastrum* (DC.) Peterm. В результате процедур предварительной обработки в программе «MorphoJ» были получены схемы каркасы, дающие представление о средней форме листовых пластинок в видовых выборках секции *Delphinastrum* при расстановке 30 метокландмарок (рис. 3а). Видно, что средние формы по таксонам в большинстве случаев заметно отличаются – как между собой, так и от каркаса

средней формы по генеральной совокупности. В целом, различия в форме листовых пластинок связаны с длинами центрального сегмента средней лопасти и нерасчленённой части листовой пластинки, положением краевых точек верхних и нижних лопастей, а также характером основа-

ния листовой пластинки и расстоянием между нижними лопастями. Средние каркасные формы таксонов близки к средней форме по всей выборке у *D. subcuneatum* и в несколько меньшей степени – у *D. duhmborgii* и *D. dictyocarpum*.

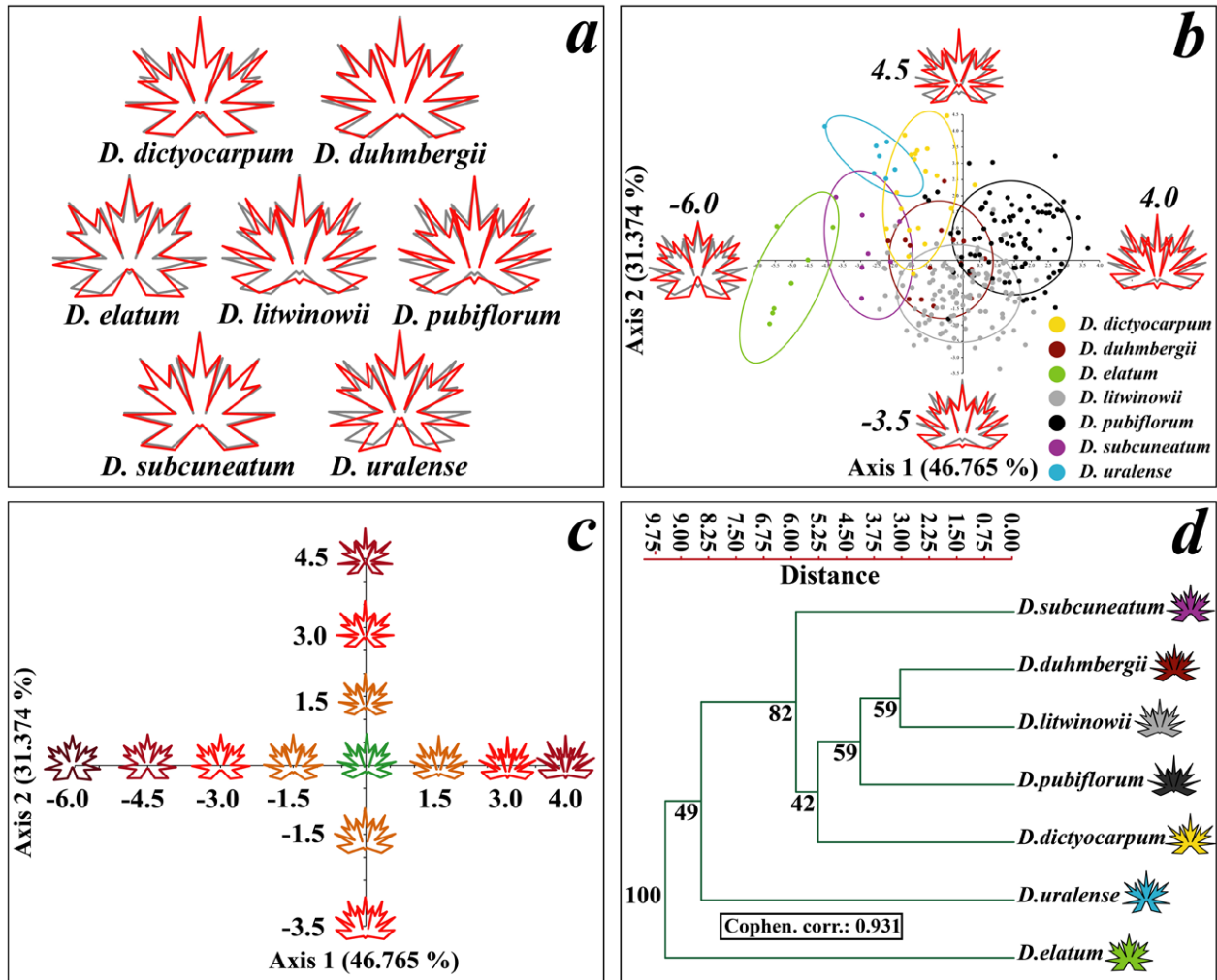


Рис. 3. Результаты анализа методами геометрической морфометрии подрода *Delphinastrum* при расстановке 30 меток-ландмарков: **a** – средние формы листовых пластинок видов подрода. Красным цветом показан каркас средней формы конкретного вида, серым – каркас средней формы по генеральной совокупности; **b** – ординация точек, соответствующих формам листовых пластинок особей видов подрода, методом канонического дискриминантного анализа. По краям осей показаны экстремальные формы листовых пластинок, соответствующие конечным числовым значениям осей; **c** – изменение каркасов формы листовых пластинок видов подрода согласно значениям на осях канонических переменных; **d** – дендрограмма на основании дистанций расстояния Махаланобиса для видов подрода *Delphinastrum*.

При ординации точек, соответствующих образцам таксонов подрода *Delphinastrum*, в пространстве первых двух канонических переменных, объясняющих 78 % дисперсии, наблюдалось их следующее распределение (рис. 3b). Преимущественно в правой части области ординации расположилось единое облако рассеяния, образованное образцами таксонов *D. duhmborgii*,

D. litwinowii, *D. pubiflorum*. В этом общем облаке в большей степени обособлены точки рассеяния, соответствующие образцам *D. pubiflorum*. Листовые пластинки этих трёх таксонов в большинстве своём отличаются относительно широкими сегментами, средней (по отношению к другим таксонам) длиной нерасчленённой части и большим расстоянием между нижними

лопастями, клиновидным, вытянутым в черешок основанием. В понимании Н. Н. Цвелёва (Tzvelev, 2001), два из них – *D. duhmbergii* и *D. litwinowii* – относятся к *D. aggr. cuneatum*, а третий (*D. pubiflorum*) – к *D. aggr. dictyocarpum*. Ранее по результатам таргетного секвенирования региона ITS показано хорошее разделение между двумя этими видами-агрегатами, в то время как *D. duhmbergii* и *D. litwinowii* не разделились и интерпретированы как синонимы с приоритетным названием *D. cuneatum* (Kashin et al., 2021). Однако результаты изучения формы листовых пластинок методами геометрической морфометрии недостаточно полно разделили между собой и представителей разных видов-агрегатов.

К описываемому облаку в левой части пространства ординации примешиваются точки рассеяния, соответствующие образцам других групповых выборок. В частности, довольно значительно присутствие точек, отвечающих образцам *D. subcuneatum* и *D. dictyocarpum*. Это соответствует тому, что *D. duhmbergii*, *D. litwinowii*, *D. subcuneatum* объединяются Н. Н. Цвелёвым в *D. aggr. cuneatum*, а *D. pubiflorum* и *D. dictyocarpum* – в *D. aggr. dictyocarpum*. Для формы листовой пластинки *D. dictyocarpum* характерны: относительно широкое расстояние между нижними лопастями при средней ширине сегментов в целом, небольшая нерасчленённая часть, клиновидное или слабо клиновидное основание. Для листовых пластинок *D. subcuneatum* характерны средние по ширине сегменты и нерасчленённая часть, небольшой центральный сегмент средней лопасти, относительно широкое расстояние между нижними лопастями и слабо клиновидное основание.

Фактически за пределами общего облака рассеяния точек, соответствующих образцам *D. duhmbergii*, *D. litwinowii*, *D. pubiflorum*, оказались только облака рассеяния точек, соответствующих образцам *D. elatum* и *D. uralense*, между собой также хорошо разделившиеся. Согласно положению точек, для листовых пластинок *D. uralense* характерны: относительно узкие сегменты, небольшая нерасчленённая часть, удлинённый центральный сегмент средней лопасти, небольшое расстояние между нижними лопастями, обрубленное или слабо клиновидное основание. Для листовых пластинок *D. elatum* характерны относительно широкие сегменты, значительная нерасчленённая часть, небольшой центральный сегмент средней лопасти и неши-

рокое расстояние между нижними лопастями, а также – обрубленное или слабо клиновидное основание.

В целом распределение точек рассеяния хорошо иллюстрирует высокий полиморфизм форм в популяциях исследованных таксонов. Разделились фактически только *D. elatum* и *D. uralense*. В меньшей степени разделились *D. subcuneatum* и *D. dictyocarpum*, частично перекрываясь облаками рассеяния своих точек с остальными исследованными таксонами подрода.

Закономерность изменения формы листовых пластинок таксонов подрода *Delphinastrum* в пределах осей, образованных двумя первыми каноническими переменными, состоит в следующем. Изменение формы вдоль первой канонической переменной от нулевой точки, отвечающей средней форме генеральной совокупности, направо сопряжено с сужением сегментов листовой пластинки, увеличением длины центрального сегмента средней лопасти, вытягиванием основания листовой пластинки в черешок и образованием «клина», увеличением расстояния между нижними лопастями. От нулевой точки налево происходят обратные процессы: увеличение ширины сегментов, уменьшение длины центрального сегмента средней лопасти, образование обрубленного основания, уменьшение расстояния между нижними лопастями (рис. 3с).

По второй канонической переменной от средней формы вверх происходит сужение сегментов листовой пластинки, увеличение длины центрального сегмента средней лопасти, образование обрубленного основания листовой пластинки, уменьшение расстояния между нижними лопастями. От исходной средней формы вниз происходят обратные процессы: увеличение ширины сегментов, уменьшение длины центрального сегмента средней лопасти, образование клиновидного основания, увеличение расстояния между нижними лопастями (рис. 3с).

Построенная на основании дистанций расстояния Махаланобиса дендрограмма (рис. 3d) показывает, что наиболее обособлен *D. elatum*, образующий отдельный кластер. Остальные таксоны образуют второй кластер, в свою очередь разбивающийся на отдельные подкластеры первого порядка. Один из них образован *D. uralense*, а другой объединяет оставшиеся пять таксонов, в котором *D. subcuneatum* выносятся отдельной ветвью, в то время как остальные четыре объединяются.

Проведённый регрессионный анализ показал достаточно слабую зависимость формы листовой пластинки от логарифма размера центроида, выступающего в данном случае размерным показателем. Перестановочный (permutation) тест опроверг нулевую гипотезу об отсутствии зависимости формы от размера при достоверном уровне значимости ($p = 0,409$). Однако полученный уровень значимости имеет пограничное значение, близкое к допустимому. Поэтому обоснованно полагать, что имеет место крайне слабая аллометрическая зависимость формы от

размеров листовой пластинки и размерный компонент вносит достаточно малый вклад в изменчивость формы листовых пластинок таксонов подрода *Delphinastrum*.

Прокрустов дисперсионный анализ показал слабое влияние флуктуирующей асимметрии (сумма квадратов (SS) = 1,542) на форму и отсутствие влияния направленной асимметрии (SS = 0,011) на таковую. При этом указанные значения в обоих случаях намного меньше, чем у влияния различий между образцами ($S = 6,896$) (табл. 2).

Таблица 2

Результаты Прокрустова дисперсионного анализа для таксонов подрода *Delphinastrum*

| | SS | MS | df | F | P (param.) |
|------------|-------|-------|------|------|------------|
| Individual | 6,896 | 0,000 | 7280 | 4,47 | < 0,0001 |
| Side | 0,011 | 0,000 | 28 | 1,90 | 0,0030 |
| Ind * Side | 1,542 | 0,000 | 7280 | | |

Примеч.: individual – вариация между образцами; side – направленная асимметрия; Ind * Side – флуктуирующая асимметрия; SS – сумма квадратов; MS – средняя сумма квадратов; df – число степеней свободы; F – критерий Фишера; P (param.) – уровень значимости.

Подрод *Oligophyllon* Dimitrova. В результате процедур предварительной обработки в программе «MorphoJ» были получены схемы каркасы, дающие представление о средней форме листовых пластинок в групповых выборках подрода *Oligophyllon* при расстановке 30 меток-ландмарк (рис. 4а). Средние формы по таксонам в большинстве случаев заметно отличаются как между собой, так и от каркаса средней формы по общей совокупности. Различия формы листовых пластинок связаны с теми же параметрами, что и у таксонов подрода *Delphinastrum*. При этом средние каркасные формы лишь у трёх таксонов (*D. crispulum*, *D. flexuosum*, *D. mariae*) близки средней форме по всей выборке.

При ординации точек, соответствующих образцам таксонов подрода *Oligophyllon*, в пространстве первых двух канонических переменных, объясняющих 69 % дисперсии, наблюдалось их следующее распределение (рис. 4б). В правой части пространства ординации с двух сторон от оси 2 расположилось хорошо отделившееся от остальных облако рассеяния точек, соответствующих образцам *D. freynii*, *D. puniceum*, *D. sergii*. Листовые пластинки данного конгломерата характеризуются узкой шириной сегментов, сильным, вплоть до жилок рассечением, длинным центральным сегментом средней лопасти, различным расстоянием между нижними лопастями – от среднего до совсем незначительного, обрубленным основанием. Интересно, что ареалы

этих трёх таксонов пространственно разделены. Растения *D. puniceum* произрастают в крайне ксерофитных условиях Нижнего Поволжья и Калмыкии, *D. sergii* – в более мезофитных условиях Воронежской обл., *D. freynii* – также в более мезофитных условиях горного Дагестана.

В верхней части области ординации с обеих сторон от оси 1 расположилось хорошо отделившееся от остальных облако рассеяния точек, соответствующих образцам *D. caucasicum*. Для листовых пластинок этого таксона характерны небольшой центральный сегмент средней лопасти, небольшое расстояние между нижними лопастями листовой пластинки, небольшая длина нерасчленённой части, обрубленное или слабо клиновидное основание.

В центральной части области ординации расположилось облако рассеяния, образованное точками, соответствующими образцам пяти таксонов – *D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*, *D. mariae*. Точки *D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum* располагаются несколько левее от центра области ординации, а точки, соответствующие листовым пластинкам *D. mariae*, находятся ближе к центру области ординации. От остальных таксонов данного облака *D. mariae* отличают несколько более узкие сегменты и более широкое расстояние между нижними лопастями. Наиболее близко к точкам *D. mariae* располагаются точки *D. crispulum*.

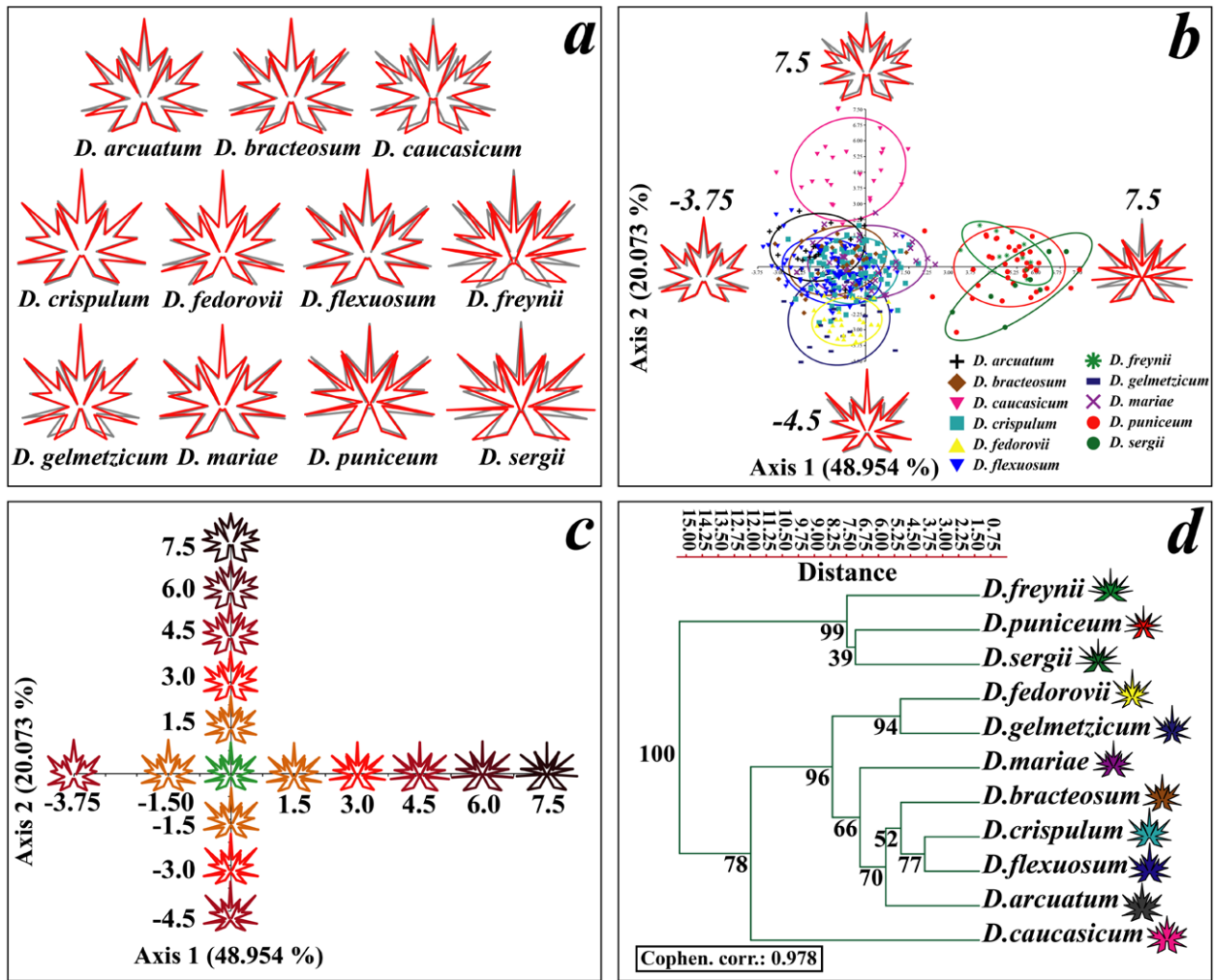


Рис. 4. Результаты анализа методами геометрической морфометрии подрода *Oligophyllum* при расстановке 30 меток-ландмарков: **a** – средние формы листовых пластинок видов подрода. Красным цветом показан каркас средней формы конкретного вида, серым – каркас средней формы по генеральной совокупности; **b** – ординация точек, соответствующих формам листовых пластинок особей видов подрода, методом канонического дискриминантного анализа. По краям осей показаны экстремальные формы листовых пластинок, соответствующие конечным числовым значениям осей; **c** – изменение каркасов формы листовых пластинок видов подрода согласно значениям на осях канонических переменных; **d** – дендрограмма на основании дистанций расстояния Махаланобиса для видов подрода *Oligophyllum*.

Ниже описанного облака, частично перекрываясь с ним, расположилось облако рассеяния точек, соответствующих образцам ещё двух таксонов *D. fedorovii* и *D. gelmetzicum*. Их листовые пластинки характеризуются относительно узкими сегментами, значительным рассечением, длинным центральным сегментом средней лопасти и небольшим расстоянием между нижними лопастями, обрубленным или слабо клиновидным основанием.

Изменение формы вдоль первой канонической переменной от нулевой точки, отвечающей средней форме генеральной совокупности, направо сопряжено с сужением сегментов листо-

вой пластинки, увеличением длины центрального сегмента средней лопасти, уменьшением длины нерасчленённой части, некоторым увеличением расстояния между нижними лопастями. От нулевой точки налево происходят обратные процессы: увеличение ширины сегментов, уменьшение длины центрального сегмента средней лопасти, увеличение длины нерасчленённой части, уменьшение длины между нижними лопастями. По второй канонической переменной от средней формы вверх происходит увеличение ширины сегментов, уменьшение длины центрального сегмента средней лопасти, увеличение длины нерасчленённой части, сокращение

расстояния между нижними лопастями листовой пластинки. От средней формы вниз происходит сужение сегментов листовой пластинки, увеличение длины центрального сегмента средней лопасти, уменьшение длины нерасчленённой части, некоторое увеличение расстояния между нижними лопастями (рис. 4с).

Построенная на основании дистанций расстояния Махаланобиса дендрограмма (рис. 4d) распадается на два кластера. Первый (левый) кластер объединяет *D. freynii*, *D. puniceum* и *D. sergii*; второй (правый) – оставшиеся виды. При этом второй кластер с достаточно высокой бутстреп поддержкой распадается на подкластеры первого порядка, из которых один – представлен *D. caucasicum*, а второй – объединяет семь оставшихся таксонов. Он, в свою очередь, распадается на два подкластера второго порядка, один из которых объединяет *D. fedorovii* и *D. gelmetzicum*, а второй – *D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*, *D. mariae*. При этом последний из указанных видов отделяется от *D. arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*.

Проведённый регрессионный анализ, так же как в отношении таксонов подрода *Delphinastrum*, показал достоверную зависимость формы листовой пластинки от логарифма размера центроида, выступающего в данном случае размерным показателем. Перестановочный (permutation) тест опроверг нулевую гипотезу об отсутствии зависимости формы от размера при высоком уровне значимости ($p < 0,0001$). Следовательно, имеет место аллометрическая зависимость формы от размеров листовой пластинки. Однако, так же как у таксонов подрода *Delphinastrum*, размерный компонент вносит достаточно малый вклад в изменчивость формы листовых пластинок видов подрода.

Прокрустов дисперсионный анализ показал слабое влияние флуктуирующей асимметрии (сумма квадратов (SS) = 3,183) на форму и отсутствие влияния направленной асимметрии (SS = 0,008) на таковую. При этом указанные значения в обоих случаях намного меньше, чем у влияния различий между образцами (SS = 12,949) (табл. 3).

Таблица 3

Результаты Прокрустова дисперсионного анализа для таксонов подрода *Oligophyllon*

| | SS | MS | df | F | P (param.) |
|------------|--------|-------|-------|------|------------|
| Individual | 12,949 | 0,001 | 11284 | 4,07 | < 0,0001 |
| Side | 0,008 | 0,000 | 28 | 1,06 | 0,3771 |
| Ind * Side | 3,183 | 0,000 | 11284 | | |

Примеч.: individual – вариация между образцами; side – направленная асимметрия; Ind * Side – флуктуирующая асимметрия; SS – сумма квадратов; MS – средняя сумма квадратов; df – число степеней свободы; F – критерий Фишера; P (param.) – уровень значимости.

Полиморфизм нуклеотидных последовательностей региона ITS2. На филогенетическом дереве, построенном в результате анализа гаплотипов межгенного транскрибируемого спейсера ITS2 методом Байеса, все образцы *Delphinium* подразделились на два кластера (рис. 5).

Первый из них распался на два подкластера первого порядка и одну отдельную ветвь, образованную образцом *D. macropogon*. Один подкластер первого порядка объединяет образцы неразделившихся *D. freynii* и *D. sergii*. Второй подкластер первого порядка разделяется на два подкластера второго порядка, один из которых объединяет все образцы *D. puniceum*, второй – образцы *D. samurense* Murtazaliev et Luferov.

Второй кластер распался на два подкластера первого порядка и две отдельные ветви. Первый подкластер распался на три подкластера вто-

рого порядка: 1) образцы *D. arcuatum*; 2) образцы *D. caucasicum*; 3) образцы неразделившихся остальных *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae* N. Busch, *D. fedorovii*, *D. flexuosum*, *D. gelmetzicum* и *D. speciosum* M. Bieb. Второй подкластер первого порядка распался на шесть клад: 1) *D. cuneatum* + *D. subcuneatum* + *D. duhmbergii* + *D. litwinovii* + образцы из первой, второй и третьей популяций *D. elatum*, произрастающих на западной границе ареала; 2) большинство образцов *D. uralense*; 3) *D. dictyocarpum* + один образец из третьей популяции *D. pubiflorum*; 4) уральские популяции *D. elatum*; 5) остальные образцы *D. pubiflorum*; 6) образцы второй популяций *D. uralense*. Отдельные ветви образовали образцы *D. mariae* и один образец из первой популяции *D. bracteosum*.

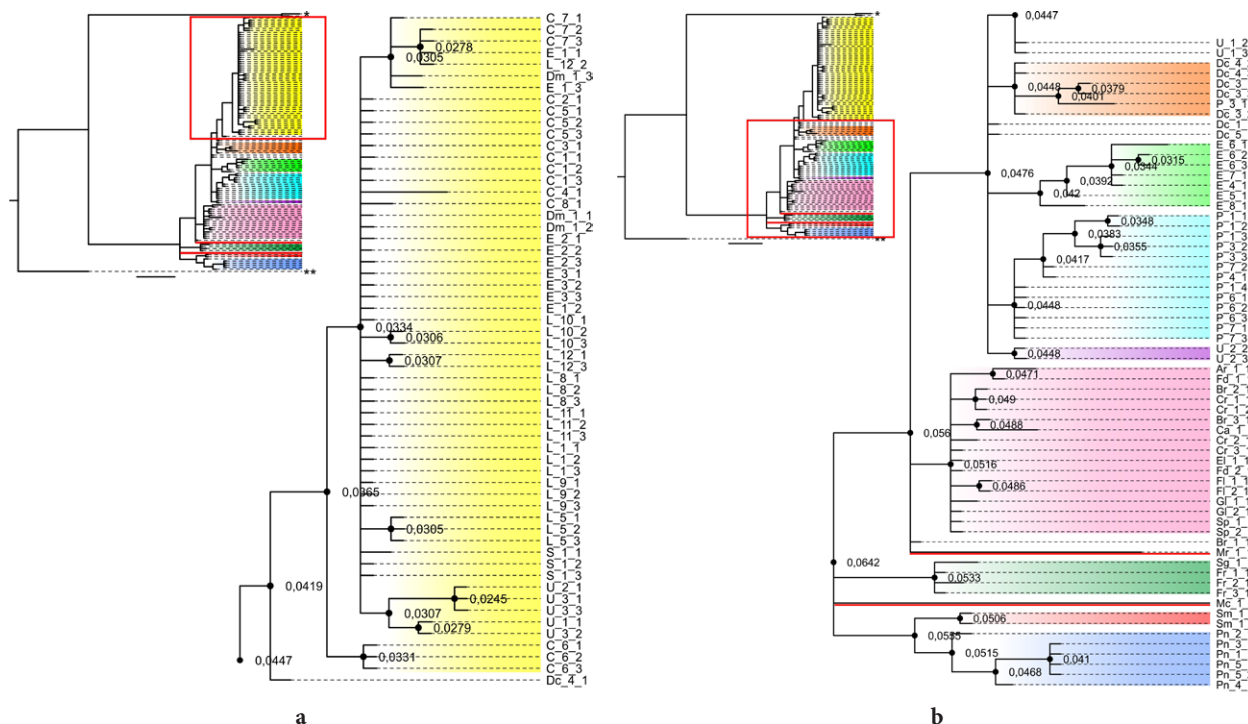


Рис. 5. Филогенетическое дерево, построенное методом Байеса для региона ITS2 ядерной ДНК 24 исследуемых таксонов *Delphinium*. Условные обозначения см. табл. 1. Внешние группы: * – *Consolida armeniaca* (JF331883) + *C. olopetala* (JF331895); ** – *Aconitum kusnezoffii* (KR082763). Масштаб: 0,02 (expected changes per site).

Обсуждение

По результатам изучения форм листовой пластинки таксонов подрода *Delphinastrum* методом канонического анализа при расстановке 30 меток-ландмарков относительно хорошо разделились только *D. elatum* и *D. uralense*, в то время как *D. litwinowii*, *D. pubiflorum*, *D. duhmbergii*, *D. subsineatum* фактически не разделились. В пределах подрода *Oligophyllon* этим методом хорошо отделился *D. caucasicum*. Разделились также облака рассеяния точек *D. freynii* + *D. puniceum* + *D. sergii* с одной стороны и *D. fedorovii* + *D. gelmetzicum* – с другой. *Delphinium arcuatum*, *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. flexuosum*, *D. mariaae* между собой не разделились, образовав одно общее облако рассеяния точек в центральной части области ординации.

Как уже говорилось, увеличение числа меток-ландмарков до 66 (рис. 6) или 84 (не показано) принципиально не изменили результатов анализа, что, на наш взгляд, указывает на высокое соответствие выявленного характера разделения исследуемых таксонов объективной картине изменчивости морфологии листовой пластинки у исследованных таксонов.

Интересно, что при анализе таксонов подрода *Oligophyllon* в случае исключения из него

образцов наиболее полиморфных *D. crispulum* и *D. flexuosum* разделение остальных таксонов Северного Кавказа становится более внятным (рис. 7). В этом случае кроме *D. caucasicum* хорошо отделяется *D. mariaae*. Кроме того, относительно хорошо разделяются *D. bracteosum* и *D. arcuatum*, однако абсолютно не разделяются между собой *D. fedorovii* и *D. gelmetzicum*.

С использованием геометрической морфометрии показано, что различия в форме листовых пластинок таксонов подродов *Delphinastrum* и *Oligophyllon* в основном связаны с шириной сегментов, длинами центрального сегмента средней лопасти и нерасчленённой части листовой пластинки, степенью её рассечения, формой основания, обрубленной или клиновидной, расстоянием между нижними лопастями.

Проведённый анализ изменчивости форм листовых пластинок у исследованных таксонов свидетельствует о том, что этот признак потенциально может быть использован для разделения таксонов рода *Delphinium* Европейской России. Однако сложность формы листовой пластинки, характерная для *Delphinium*, делает фактически невозможным универсальный алгоритм расстановки ландмарков для листовых пластинок всех таксонов. Разделение таксонов методами геометрической морфометрии услож-

няется ещё и тем, что параметры листовой пластинки таксонов существенно зависят от погодно-климатических условий. В связи с этим широко варьируют, зачастую перекрываясь друг с другом. Высокая вероятность гибридизации между рядом видовых таксонов создают дополнительную сложность для разделения их методами геометрической морфометрии. Так, приведённые результаты указывают на сложный характер филогенетических отношений целого ряда кавказских видов рода, а также таксонов *D. aggr. dictyocarpum* и *D. aggr. cuneatum*.

Характер обособления групповых видовых выборок в пространстве канонических переменных и относительная их близость друг к другу может быть связана с экологическим или

географическим сходством мест произрастания популяций изученных таксонов. Подобная зависимость была показана ранее (Kashin et al., 2021).

В результате анализа гаплотипов межгенного транскрибируемого спейсера ITS2 методом Байеса образцы всех исследованных таксонов распределились по 14 группам. При этом расположение и сгруппированность гаплотипов таксонов, занимающих ареалы на юго-востоке Европейской России, на филогенетическом дереве, построенном в результате анализа ITS2 методом Байеса, в основном соответствует распределению гаплотипов этих же таксонов, полученных при секвенировании полного региона ITS (Kashin et al., 2021).

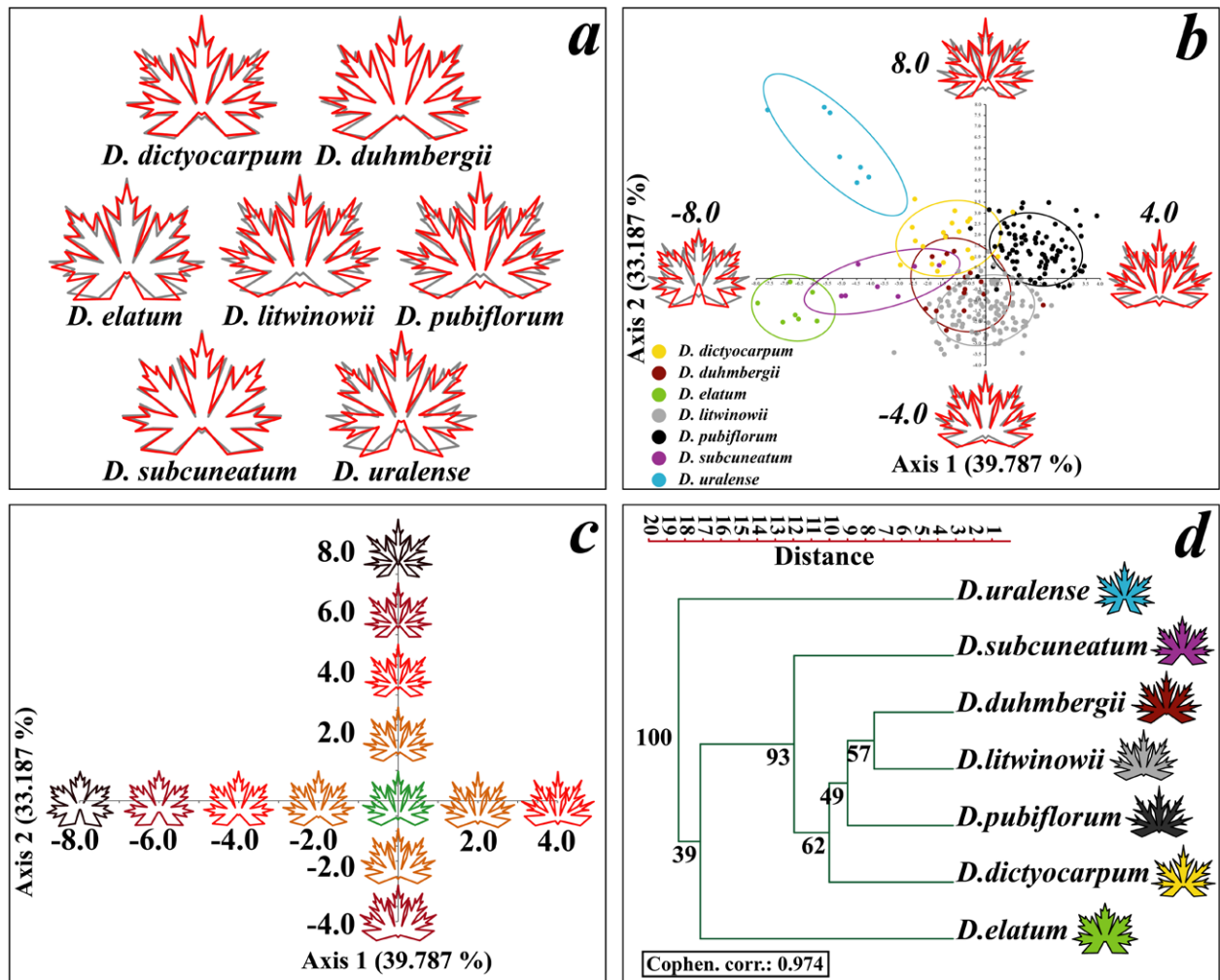


Рис. 6. Результаты анализа методами геометрической морфометрии подрода *Delphinastrum* при расстановке 66 меток-ландмарок: **a** – средние формы листовых пластинок видов подрода. Красным цветом показан каркас средней формы конкретного вида, серым – каркас средней формы по генеральной совокупности; **b** – ординация точек, соответствующих формам листовых пластинок особей видов подрода, методом канонического дискриминантного анализа. По краям осей показаны экстремальные формы листовых пластинок, соответствующие конечным числовым значениям осей; **c** – изменение каркасов формы листовых пластинок видов подрода согласно значениям на осях канонических переменных; **d** – дендрограмма на основании дистанций расстояния Махаланобиса для видов подрода *Delphinastrum*.

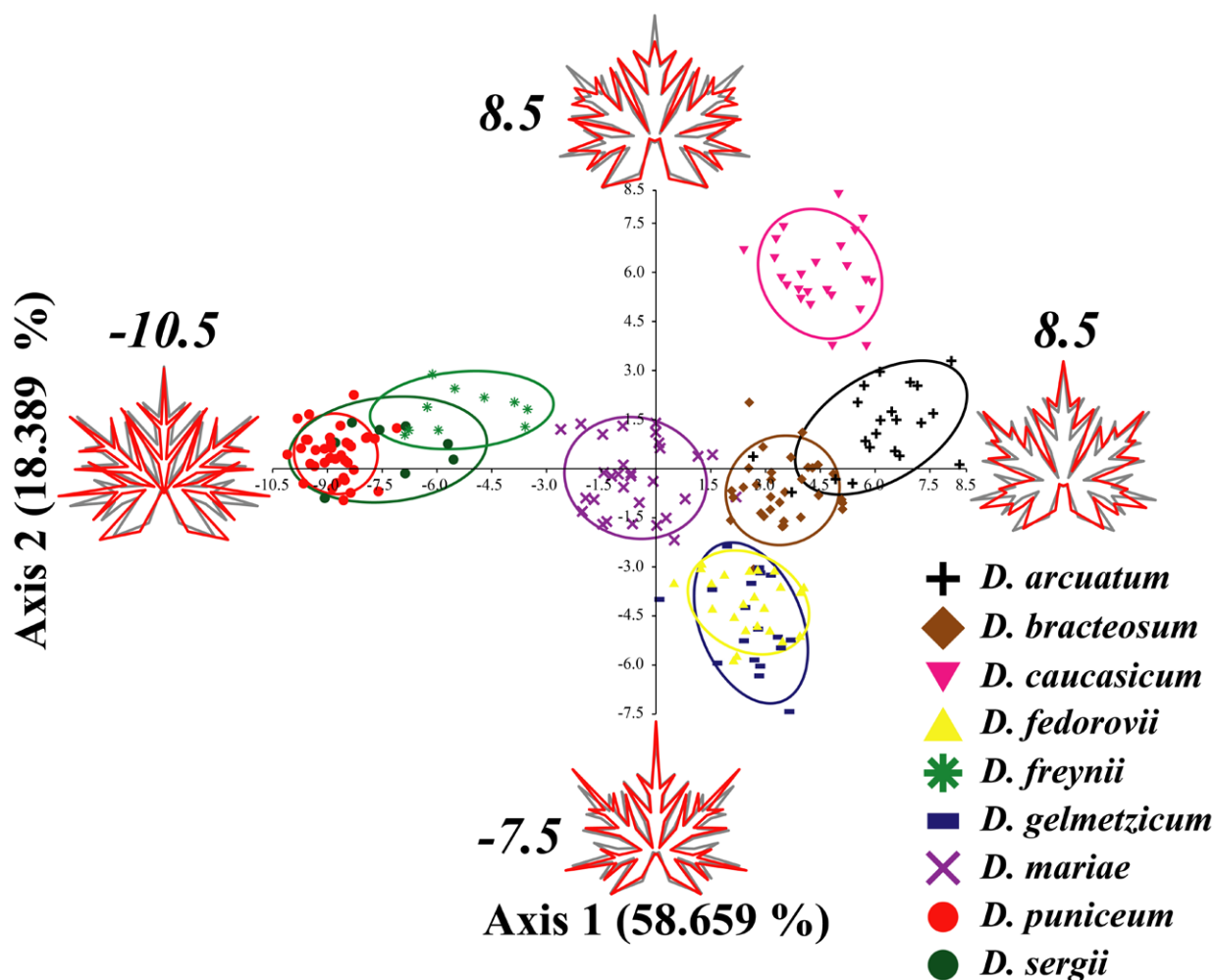


Рис. 7. Ординация точек, соответствующих формам листовых пластинок особей видов подрода *Oligophyllum*, методом канонического дискриминантного анализа с использованием 66 меток-ландмарков при исключении из анализа образцов *Delphinium crispulum* и *D. flexuosum*.

Топология внешних групп соответствует филограммам, полученным другими авторами (Jabbour, Renner, 2012).

Исходя из полученных результатов анализа гаплотипов межгенного транскрибируемого спейсера 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. schmalhauseni*, согласно «World Checklist of Vascular Plants» (WCVP, 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. lit-*

winowii 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 перекрытия ареалов, что существенно усложняет разделение этих таксонов. Они не формируют самостоятельных кластеров, 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 – недостаточным разрешением анализируемого региона ДНК. В целом результаты анализа гаплотипов соответствуют разделению исследованных таксонов методами геометрической морфометрии. Исключение со-

ставляет только *D. mariae*, который при анализе гаплотипов хорошо отделился от других видов, в то время как методами геометрической морфометрии не отделился от наиболее полиморфных *D. crispulum* и *D. flexuosum*.

Заключение

Из результатов проведённого молекулярно-генетического анализа и анализа методом геометрической морфометрии следует, что среди исследованных таксонов рода *Delphinium* юго-востока Европейской России в подроде *Delphinastrum* статусу видового ранга соответствует *D. pubiflorum*. Синонимичными являются *D. cuneatum*, *D. subcuneatum*, *D. duhmbergii* и *D. litwinowii* с приоритетным названием *D. cuneatum*. Таксономический статус *D. dictyocarpum*, *D. elatum* и *D. uralense* требует дальнейшего уточнения. По-видимому, они легко гибридизируют с *D. cuneatum* в симпатрических популяциях в зонах перекрытия ареалов, что существенно усложняет разделение этих таксонов. Полученные результаты полностью соответствуют результатам таргетного секвенирования более обширного района ITS1-5.8S-ITS2 ядерной ДНК и нумерического морфологического анализа (Kashin et al., 2021).

Из исследованных таксонов подрода *Oligophyllon* статусу видового ранга соответствуют *D. puniceum*, *D. mariae*, *D. macropogon*, *D. flexuosum*, *D. caucasicum*, *D. arcuatum* и *D. samurense*. Являются синонимичными *D. freynii* и *D. sergii* с приоритетным названием *D. schmalhauseni*. Это соответствует их статусу, указанному в «World Checklist of Vascular Plants» (WCVP, 2023). По результатам исследования *D. bracteosum*, *D. crispulum*, *D. elisabethae*, *D. fedorovii*, *D. gelmetzicum* и *D. speciosum* не разделились ни одним из использованных методов и, вероятно, являются синонимичными с приоритетным названием *D. crispulum*. Не исключено, что их неразделённость по результатам секвенирования района ITS2 связана с недостаточным разрешением изученного региона ДНК, либо с гибридизационными процессами, в частности с вовлечением в них *D. crispulum* и *D. flexuosum*.

Благодарности

Исследование было профинансировано Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ) (№ 16-04-00142 и № 20-34-90001).

Благодарим профессора Н. И. Фёдорова за помощь при сборе образцов видов *Delphinium* из Республики Башкортостан.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Blattner F. R.** 1999. Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. *Biotechniques* 27(6): 1180–1186. DOI: 10.2144/99276st04
- Chen Y., Jabbour F., Novikov A., Wang W., Gerber S.** 2018. A study of floral shape variation in *Delphinieae* (Ranunculaceae) using geometric morphometrics on herbarium specimens. *Bot. Lett.* 165(3–4): 368–376. DOI: 10.1080/23818107.2018.1427145
- Chitwood D. H., Otoni W. C.** 2017. Morphometric analysis of *Passiflora* leaves: the relationship between landmarks of the vasculature and elliptical Fourier descriptors of the blade. *GigaScience* 6(1): 1–13. DOI: 10.1093/gigascience/giw008
- Conesa M. À., Mus M., Roselló J. A.** 2012. Leaf shape variation and taxonomic boundaries in two sympatric rupicolous species of *Helichrysum* (Asteraceae: *Gnaphalieae*), assessed by linear measurements and geometric morphometry. *Biol. J. Linn. Soc.* 106(3): 498–513. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2012.01889.x
- Darriba D., Taboada G., Doallo R., Posada D.** 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9: 772. DOI: 10.1038/nmeth.2109
- Ebel A. L.** 2006. New taxa of *Delphinium* (Ranunculaceae) from the Altai. *Sist. Zametki Mater. Gerb. Krylova Tomsk. Gosud. Univ. [Systematic notes on the materials of P. N. Krylov Herbarium of Tomsk State University]* 96: 14–21. [In Russian] (Эбель А. Л. Новые таксоны рода *Delphinium* (Ranunculaceae) с Алтая // Сист. зам. Герб. Томск. ун-та, 2006. Т. 96. С. 14–21).
- Ebel A. L.** 2007. A new species of *Delphinium* L. (Ranunculaceae) from South Siberia. *Sist. Zametki Mater. Gerb. Krylova Tomsk. Gosud. Univ. [Systematic notes on the materials of P. N. Krylov Herbarium of Tomsk State University]* 98: 13–16. [In Russian] (Эбель А. Л. Новый вид рода *Delphinium* L. (Ranunculaceae) из Южной Сибири // Сист. зам. Герб. Томск. ун-та, 2007. Т. 98. С. 13–16).
- Fedorov N. I.** 2003. *Rod Delphinium L. na Yuzhnom Urale: ekologiya, populyatsionnaya struktura i biokhimicheskiye osobennosti* [The genus *Delphinium* L. in the Southern Urals: ecology, population structure and biochemical characteristics]. Ufa: Gilem Publ. 149 pp. [In Russian] (Фёдоров Н. И. Род *Delphinium* L. на Южном Урале: экология, популяционная структура и биохимические особенности. Уфа: Гилем, 2003. 149 с.).

- Grant V.** 1981. *Plant speciation*. New York: Columbia Univ. Press. 563 pp.
- Hall T. A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95–98. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29
- Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D.** 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(1): 1–9.
- Hodač L., Barke B. H., Hörandl E.** 2018. Mendelian segregation of leaf phenotypes in experimental F2 hybrids elucidates origin of morphological diversity of the apomictic *Ranunculus auricomus* complex. *Taxon* 67(6): 1082–1092. DOI: 10.12705/676.6
- Jabbour F., Renner S. S.** 2011. *Consolida* and *Aconitella* are an annual clade of *Delphinium* (Ranunculaceae) that diversified in the Mediterranean basin and the Irano-Turanian region. *Taxon* 60(4): 1029–1040. DOI: 10.1002/tax.604007
- Jabbour F., Renner S. S.** 2012. A phylogeny of *Delphinieae* (Ranunculaceae) shows that *Aconitum* is nested within *Delphinium* and that Late Miocene transitions to long life cycles in the Himalayas and Southwest China coincide with bursts in diversification. *Mol. Phylogenet. Evol.* 62(3): 928–942. DOI: 10.1016/j.ympev.2011.12.005
- Kamelin R. V.** 2009. The peculiarities of flowering plants speciation. *Proceedings of the Zoological institute of the Russian academy of sciences* 313(S1): 141–149. [In Russian] (**Камелин Р. В.** Особенности видообразования у цветковых растений // Труды Зоологического института РАН, 2009. Т. 313, № S1. С. 141–149).
- Karbstein K., Tomasello S., Hodač L., Dunkel F. G., Daubert M., Hörandl E.** 2020. Phylogenomics supported by geometric morphometrics reveals delimitation of sexual species within the polyploid apomictic *Ranunculus auricomus* complex (Ranunculaceae). *Taxon* 69: 1191–1220. DOI: 10.1002/tax.12365
- Kashin A. S., Kritskaya T. A., Bogoslov A. V., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Ishmuratova M. M., Fedorov N. I.** 2021. Taxonomic revision of *Delphinium* (Ranunculaceae) in the South-East of European Russia. *Plant Syst. Evol.* 307:59. DOI: 10.1007/s00606-021-01783-y
- Klingenberg C. P.** 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.* 11(2): 353–357. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x
- Klingenberg C. P.** 2022. Methods for studying allometry in geometric morphometrics: a comparison of performance. *Evol. Ecol.* 36: 439–470. DOI: 10.1007/s10682-022-10170-z
- Koontz Ja. A., Soltis P. S., Soltis D. E.** 2009. Using phylogeny reconstruction to test hypotheses of hybrid origin in *Delphinium* section *Diedropetala* (Ranunculaceae). *Systematic Botany* 29(2): 345–357.
- Kurbatskiy V. I.** 2017. New species of *Delphinium* L. (Ranunculaceae) from the Middle Siberia. *Sist. Zаметki Mater. Gerb. Krylova Tomsk. Gosud. Univ.* [Systematic notes on the materials of P. N. Krylov Herbarium of Tomsk State University] 115: 23–27. [In Russian] (**Курбатский В. И.** Новый вид *Delphinium* L. (Ranunculaceae) из Средней Сибири // Сист. зам. Герб. Томск. ун-та, 2017. Т. 115. С. 23–27. DOI: 10.17223/20764103.115.4).
- Luferov A. N.** 2012. A new species of the genus *Delphinium* L. (Ranunculaceae) from Armenia. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy* [Novit. Syst. Pl. Vasc.] 43: 57–60. [In Russian] (**Луферов А. Н.** Новый вид рода *Delphinium* L. (Ranunculaceae) из Армении // Новости сист. высш. раст., 2012. Т. 43. С. 57–60).
- Malyutin N. I.** 1973. The phylogeny and the taxonomy of the *Delphinium* L. genus. *Bot. Zhurn.* 58(12): 1710–1722. [In Russian] (**Малютин Н. И.** Филогения и систематика рода *Delphinium* L. // Бот. журн., 1973. Т. 58, № 12. С. 1710–1722).
- Malyutin N. I.** 1987. The system of the genus *Delphinium* (Ranunculaceae) based on the morphological features of seeds. *Bot. Zhurn.* 72(5): 683–693. [In Russian] (**Малютин Н. И.** Система рода *Delphinium* (Ranunculaceae), основанная на морфологических признаках семян // Бот. журн., 1987. Т. 72, № 5. С. 683–693).
- Malyutin N. I.** 1992. *Mноголетние дельфиниумы* [Perennial delphiniums]. Moscow: Agropromizdat. 56 pp. [In Russian] (**Малютин Н. И.** Многолетние дельфиниумы. М.: Агропромиздат, 1992. 56 с.).
- Márquez F., Lozada M., Idaszkin Y. L., González-José R., Bigatti G.** 2022. *Cannabis* varieties can be distinguished by achene shape using geometric morphometrics. *Cannabis Cannabinoid Res.* 7(4): 409–414. DOI: 10.1089/can.2020.0172
- Mijnsbrugge K. V., Clercq R. L., Michiels B.** 2016. Dissection of leaf morphological traits from isolated and declined relict populations of *Ulmus laevis* reveals putative random ecotype. *Plant Syst. Evol.* 302(2): 219–229. DOI: 10.1007/s00606-015-1255-5
- Miljković D., Stefanović M., Orlović S., Neđić M. S., Kesić L., Stojnić S.** 2019. Wild cherry (*Prunus avium* (L.) L.) leaf shape and size variations in natural populations at different elevations. *Alp. Botany* 129: 163–174. DOI: 10.1007/s00035-019-00227-1
- Murtazaliev R. A., Luferov A. N.** 2021. A new species of *Delphinium* L. (Ranunculaceae) from Dagestan (Eastern Caucasus). *Turczaninowia* 24, 4: 114–122. DOI: 10.14258/turczaninowia.24.4.11
- Neto L. M., van den Berg C., Forzza R. C.** 2019. Linear and geometric morphometrics as tools to resolve species circumscription in the *Pseudolaelia vellozicola* complex (Orchidaceae, *Laeliinae*). *Plant Ecol. Evol.* 152(1): 53–67. DOI: 10.5091/plecevo.2019.1531

Nevskiy S. A. 1937. *Delphinium* L. In: *Flora SSSR [Flora of the USSR]*. Vol. 7. Moscow; Leningrad: Publishers of Academy of Sciences of USSR. Pp. 101–183. [In Russian] (**Невский С. А.** Живокость или Шпорник – *Delphinium* L. // Флора СССР. Т. 7. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1937. С. 101–183).

Plants of the World Online [2023]. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. URL: <https://powo.science.kew.org> (Accessed 10 May 2023).

Ronquist F., Huelsenbeck J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572–1574. DOI: 10.1093/bioinformatics/btg180

Strelin M. M., Cosacov A., Chalcoff V. R., Maubecin C. C., Sérsic A. N., Benitez-Vieyra S. M. 2021. The role of ontogenetic allometry and nonallometric flower shape variation in species-level adaptive diversification – *Calceolaria polyrhiza* (Calceolariaceae) as a case study. *Evol. Dev.* 23: 231–243. DOI: 10.1111/ede.12363

Tutin T. G., Burges N. A., Edmondson J. R., Chater A. O., Heywood V. H., Moore D. M., Akeroyd J. R., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A., Newton M. E., Mill R. R. 1993. *Flora Europaea*. Vol. 1: Psilotaceae to Platanaceae. New York: Cambridge University Press. 629 pp.

Tzvelev N. N. 1996. On some genera of the family Ranunculaceae in Eastern Europe. *Bot. Zhurn.* 81(12): 112–122. [In Russian] (**Цвелёв Н. Н.** О некоторых родах семейства Лютиковых (Ranunculaceae) в Восточной Европе // Бот. журн., 1996. Т. 81, № 12. С. 112–122).

Tzvelev N. N. 2001. *Delphinium* L. In: *Flora Vostochnoy Yevropy [Flora of Eastern Europe]*. Vol. 10. St. Petersburg: Mir i Semya Publ.; SPCPU Publ. Pp. 66–74. [In Russian] (**Цвелёв Н. Н.** Живокость – *Delphinium* L. // Флора Восточной Европы. Т. 10. СПб.: Мир и семья; Изд-во СПХФА, 2001. С. 66–74).

Vasil'ev A. G., Vasil'eva I. A., Shkurikhin A. O. 2018. *Geometric morphometrics: from theory to practice*. Moscow: KMK Scientific Press. 471 pp. [In Russian] (**Васильев А. Г., Васильева И. А., Шкурихин А. О.** Геометрическая морфометрия: от теории к практике. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2018. 471 с.).

von Balthazar M., Endress P. K., Qiu Y.-L. 2000. Phylogenetic relationships in Buxaceae based on nuclear internal transcribed spacers and plastid *ndhF* sequences. *Int. J. Plant Sci.* 161(5): 785–792. DOI: 10.1086/314302

WCVP [2023]. World Checklist of Vascular Plants, version 2.0. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. URL: <http://wcvp.science.kew.org> (Accessed 10 May 2023).

Wen J., Zimmer E. 1996. Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the ginseng genus, Araliaceae): inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 6(2): 167–177. DOI: 10.1006/mpev.1996.0069

White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Shinsky, T. J. White (eds.). San Diego: Academic Press. Pp. 315–322.

Yelenevskiy A. G., Bulanyy Yu. I., Radygina V. I. 2009. *Opredelitel sosudistykh rasteniy Saratovskoy oblasti [Handbook of vascular plants of the Saratov region]*. Saratov: Bazhenov Publ. 248 pp. [In Russian] (**Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И.** Определитель сосудистых растений Саратовской области. Саратов: ИП Баженов, 2009. 248 с.).