



УДК 582.675.1:581.961(571.150+571.151)

Pulsatilla chemalensis (Ranunculaceae) – новый для науки нотовид с Алтая

В. Ф. Зайков^{1,4*}, А. А. Кечайкин^{1,5}, М. Г. Куцев^{1,6}, В. И. Дорофеев^{2,7}, Т. А. Синицына^{1,8},
А. В. Каракулов^{3,9}, А. В. Анисимов^{1,10}, А. А. Баткин^{1,11}, С. Ю. Панкратов^{1,3,12}, И. С. Чупина^{3,13},
И. А. Шестаков^{1,14}, А. М. Колтунова^{1,15}, А. Е. Ахметов^{1,16}, А. И. Шмаков^{1,17}

¹ Алтайский государственный университет, пр. Ленина, д. 61, г. Барнаул, 656049, Россия

² Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, д. 2, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия

³ Центральный сибирский ботанический сад, ул. Золотодолинская, д. 101, г. Новосибирск, 630090, Россия

⁴ E-mail: vz1703@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1641-9458>

⁵ E-mail: alekseikechaikin@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0754-4698>

⁶ E-mail: m_kucev@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2284-6851>

⁷ E-mail: vdorofeyev@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3642-197X>

⁸ E-mail: t.sinitsyna@list.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-7644-9176>

⁹ E-mail: krk@inbox.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1873-9300>

¹⁰ E-mail: anisimov_andrew_2001@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1015-7795>

¹¹ E-mail: batkinalexandr@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-5628-0089>

¹² E-mail: s-pankratov2000@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6518-7000>

¹³ E-mail: irachupina@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6475-056X>

¹⁴ E-mail: ilya_shes_takov@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8493-5617>

¹⁵ E-mail: koltunova.anas@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3753-7958>

¹⁶ E-mail: axmetov.asxat2006@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0009-0001-0824-198X>

¹⁷ E-mail: alex_shmakov@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1052-4575>

* Автор для переписки

Ключевые слова: гербарий, новый нотовид, Республика Алтай, *Pulsatilla chemalensis*, *Pulsatilla multifida*, *Pulsatilla turczaninovii*, Ranunculaceae.

Аннотация. Межвидовая гибридизация ярко представлена среди видов рода *Pulsatilla*. Для выявления гибридов в настоящее время помимо классических методов ботаники широко используются генетические. Авторами были обнаружены сборы прострелов, по морфологии занимающие промежуточное положение между видами *P. multifida* и *P. turczaninovii*. Исследование этих образцов методом ISSR-PCR подтвердило гибридное происхождение данных образцов. Секвенирование по Сэнгеру региона ITS1-5.8S-ITS2 рДНК исследуемых образцов показало наличие нескольких полиморфных сайтов, что также может свидетельствовать об их гибридном происхождении. На основе морфологических и молекулярно-генетических данных предлагается к обнаружению нотовид *Pulsatilla chemalensis*.

***Pulsatilla chemalensis* (Ranunculaceae), a new nothospecies from Altai**

V. F. Zaikov¹, A. A. Kechaykin¹, M. G. Kutsev¹, V. I. Dorofeyev², T. A. Sinitsyna¹,
A. V. Karakulov³, A. V. Anisimov¹, A. A. Batkin¹, S. Yu. Pankratov¹, I. S. Chupina³,
I. A. Shestakov¹, A. M. Koltunova¹, A. E. Akhmetov¹, A. I. Shmakov¹

¹ Altai State University, Lenina Pr., 61, Barnaul, 656049, Russian Federation

² Komarov Botanical Institute of RAS, Prof. Popova St., 2, St. Petersburg, 197022, Russian Federation

³ Central Siberian Botanical Garden, Zolotodolinskaya St., 101, Novosibirsk, Russian Federation

Keywords: herbarium, new nothospecies, *Pulsatilla chemalensis*, *Pulsatilla multifida*, *Pulsatilla turczaninovii*, Ranunculaceae, Republic of Altai.

Summary. Interspecific hybridization is clearly represented among the species of the genus *Pulsatilla*. In addition to classical botanical methods, genetic methods are currently widely used to identify hybrids. The authors found pasqueflowers that morphologically occupy an intermediate position between the species *P. multifida* and *P. turczaninovii*. A study of four populations using the ISSR-PCR method confirmed the hybrid origin of these samples. Sanger sequencing of the ITS1-5.8S-ITS2 region of rDNA of the samples studied showed the presence of several polymorphic sites, which may also indicate their hybrid origin. Based on morphological and molecular genetic data, the nothospecies *Pulsatilla chemalensis* is proposed for publication.

Введение

Представители рода *Pulsatilla* Mill. (прострел) – раннецветущие многолетние травянистые растения, произрастающие преимущественно в умеренных широтах Северного полушария. Систематика рода *Pulsatilla* весьма сложна, поскольку идентификация его представителей затрудняется как высокой степенью внутривидовой морфологической изменчивости, что не всегда возможно проверить без обширных сборов материала в полевых условиях, так и часто отмечаемой межвидовой гибридизацией (Akeroyd, 1993; Bakin, 2005; Stepanov, 2014; Li et al., 2019; Sramko et al., 2019; Valuyskikh et al., 2020; Zaikov et al., 2024). В европейской части России уже описана серия гибридов (нотовидов): *P. intermedia* (Lasch) G. Don fil. (*P. patens* (L.) Mill. × *P. vernalis* (L.) Mill.), *P. spuria* Camus (*P. vernalis* × *P. pratensis* L.), *P. hackelii* Rchb. (*P. patens* × *P. pratensis*). Их отличия были показаны не только на основе сравнения морфологических данных, но и по результатам генетических исследований специалистами Ботанического института им. В. Л. Комарова (Punina et al., 2019; Punina et al., 2024). В настоящее время известен нотовид с Дальнего Востока: *P. kissii* Mandl (*P. cernua* (Thunb.) Bercht. et J. Presl × *P. chinensis* (Bunge) Regel). С территории Южной Кореи описан *P. yambianensis* H. Z. Lv (*P. dahurica* (Fisch. ex DC.)

Spreng. × *P. cernua* (Thunb.) Bercht. et J. Presl) (Lv et al., 2018). В 2014 г. Николай Витальевич Степанов обнаружил нотовид *P. herba-somnii* Stepanov, являющийся гибридом *P. orientalisibirica* Stepanov × *P. turczaninovii* (Stepanov, 2014).

В настоящее время помимо традиционных методов ботаники, основанных на морфологических признаках, для идентификации видов и выявления гибридов довольно широко применяются генетические методы (Sun et al., 2014; Li et al., 2019; Takaishi et al., 2019; Zhang et al., 2019; Pinaeva et al., 2020; Zhivotov et al., 2023; Xue et al., 2024). Елизавета Ольгердовна Пунина с коллегами в 2024 году изучили три вида и три межвидовых гибрида прострелов с европейской части России и показали возможность выявления гибридогенных прострелов на основе сравнительного анализа последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров 35s рДНК (ITS) (Punina et al., 2024).

Во время экспедиционных работ в Республике Алтай в 2024 году нами была обнаружена примечательная популяция прострелов в окр. с. Чемала. В ходе её изучения было отмечено, что представленная популяция характеризуется дискретной неоднородностью. Детальный осмотр всей площади показал, что на представленном луговом участке произрастают два вида: *P. multifida* (E. Pritz.) Juz. и *P. turczaninovii* Krylov et Serg. Более того, также были обнаружены про-

стрелы, занимающие по ряду морфологических черт промежуточное положение между этими видами. Для прояснения ситуации мы решили изучить данные переходные образцы с использованием молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы

Материалами для исследования послужили гербарные образцы уже хорошо известных видов (*P. multifida*, *P. turczaninovii*), собранных в окрестностях с. Чемал, а также образцы с

переходными между этими двумя видами признаками и образцы из одновидовых популяций (*P. multifida* и *P. turczaninovii*). Дополнительно для анализа использованы образцы из окр. пос. Кармацкого города Новоалтайска Алтайского края, где были обнаружены не только *P. multifida* и *P. turczaninovii*, но и *P. orientali-sibirica* (близкий вид *P. multifida*) (табл. 1). Местонахождение популяций представлено на рисунке 1. Исследование морфологии проводилось с помощью специализированной научной литературы (Timokhina, 1993; Yuzerchuk, 1937).

Таблица 1. Местонахождение исследованных популяций прострелов

Популяции	Вид	Точка сбора	Координаты
Pop1	<i>P. multifida</i>	Россия, Алтайский край, Усть-Пристанский р-н, окр. с. Клепиково.	52°31' с. ш. 83°46' в. д.
Pop2	<i>P. multifida</i> <i>P. turczaninovii</i> Гибридные образцы (<i>P. chemalensis</i>)	Россия, Республика Алтай, Чемальский р-н, долина р. Катунь, 2 км южнее с. Чемал.	51°10' с. ш. 86°07' в. д.
Pop3	<i>P. turczaninovii</i>	Россия, Республика Алтай, Чемальский р-н, правый берег долины р. Катунь в 1 км ниже устья р. Бийка.	51°22' с. ш. 86°01' в. д.
Pop4	<i>P. multifida</i> <i>P. orientali-sibirica</i> <i>P. turczaninovii</i>	Россия, Алтайский край, Первомайский р-н, правый берег долины р. Обь между с. Мыльниково и пос. Кармацким г. Новоалтайска.	53°26' с. ш. 83°48' в. д.

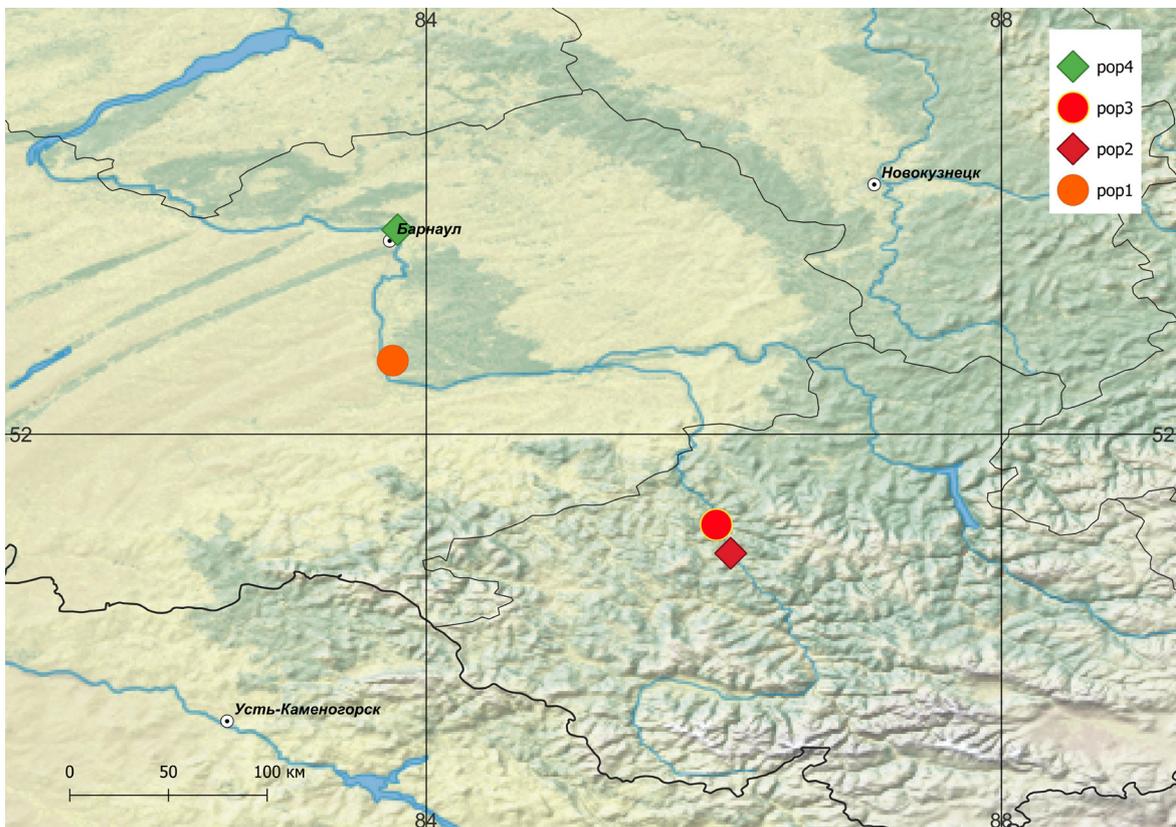


Рис. 1 / Fig. 1. Местоположение исследованных популяций прострелов.

Для выявления генетической структуры исследуемых образцов был выбран ISSR-PCR метод. Из первой популяции было отобрано 10 образцов, из второй – 12, из третьей – 19, из четвертой – 14. Экстракция ДНК осуществлялась из высушенных листьев с помощью коммерческого набора DiamondDNA по инструкции производителя (ООО «Научно-производственная фирма «Алтайбиотех», г. Барнаул). Амплификацию проводили в 20 мкл реакционной смеси с помощью набора для проведения ПЦР Био-Мастер HS-Taq ПЦР-Color (2x) (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск) в следующем составе на

один образец: 8 мкл H₂O; 10 мкл 2x ПЦР буфера; 1 мкл 10 mM праймера; 1 мкл тотальной ДНК. Амплификация осуществлялась в термоциклере BioRad MyCycler по следующему протоколу: 95 °C (5 мин); 30 циклов: 95 °C (20 с), 55 °C с понижением на 0,7 °C (35 с), 72 °C (90 с); 72 °C (7 мин). Электрофорез продуктов амплификации проходил в 2 % агарозном геле, а результаты визуализировали с помощью трансиллюминатора. Для анализа полученных результатов были отобраны самые информативные праймеры (табл. 2).

Таблица 2. ISSR праймеры, использованные в исследовании

Название праймера	Нуклеотидная Последовательность праймера (5'-3')	Число амплифицированных фрагментов ДНК	Число полиморфных фрагментов ДНК (%)
ISSR 1	AGGAGGAGGAGGAGG	32	93,75
17899B	CACACACACACAGT	31	90,3
17899A	CACACACACACAAG	29	89,7
M27	GAGAGAGAGAGAGAC	23	82,6

Электрофореграмму трансформировали в бинарную матрицу данных. Наличие или отсутствие фрагмента ДНК (условно признака) обозначалось как 1 или 0 соответственно. Полученную матрицу анализировали с помощью программы STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard, Donnelly, 2000) со следующими параметрами: admixture model с allele frequencies correlated, burn-in 100.000 и длиной прогона 100.000 MCMC, числом кластеров (K) от 2 до 12. Оптимальное количество кластеров, выявленное с помощью программы STRUCTURE HARVESTER составило 3 (Evanno et al., 2005). Матрица кластеризации была обработана с помощью программы Clust-Vis (Metsalu et al., 2015).

Для семи образцов предполагаемых гибридов и их родителей был секвенирован ITS ядерный фрагмент ДНК. Для ITS фрагмента были использованы праймеры ITS-for (5'-CGTAACAAGGTTTCCGTAG-3') и ITS-rew (5'-GGAATCCTTGTAAGTTTCTTT-3') (Kutsev et al., 2014).

Полимеразную цепную реакцию проводили в 50 мкл реакционной смеси с помощью набора для проведения ПЦР Биомастер HS-Taq ПЦР-Color 2x (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск) в следующем составе на один образец: 25 мкл готовой PCR-смеси, 21 мкл H₂O, по 1 мкл

10 mM соответствующих праймеров, 2 мкл тотальной ДНК. Протокол амплификации: 95 °C (3 мин); 35 циклов: 95 °C (20 с), 57 °C (30 с), 72 °C (30 с); 72 °C (5 мин). Очистку продуктов амплификации осуществляли с помощью микроклонок (Alove School Supplies Store, China). Секвенирование проводили методом Сэнгера с помощью секвенатора ABI PRISM 3500 XL. Полученные нуклеотидные последовательности были выровнены с помощью алгоритма ClustalW в программе MEGAX (Kumar et al., 2024) с оценкой качества прочтения вручную. Нуклеотидные последовательности загружались в генбанк National Center for Biotechnology Information (NCBI) (*P. multifida* – PV445685, PV445686; *P. turczaninovic* – PV445690, PV445691; гибридные образцы (*P. chemalensis*) – PV445687, PV445688, PV445689). В качестве внешней группы использовался вид *Anemone sylvestris* L. (MN151396.1). Филогенетическое дерево строилось методом максимального правдоподобия в MEGAX.

Результаты и обсуждение

В ходе настоящего исследования популяций представленных видов методом ISSR-PCR было использовано 4 наиболее информативных ISSR праймера. Суммарно выявлено 115 ISSR-

фрагментов для 55 образцов. Наибольшее количество амплифицированных фрагментов ДНК принадлежит праймеру ISSR 1 – 32 фрагментов, наименьшее праймеру M27 – 23 фрагмента. С помощью алгоритма Байеса был проведен ана-

лиз популяционной структуры в программе STRUCTURE (рис. 2). Полученная кластерная матрица обрабатывалась в программе ClustVis (рис. 3).

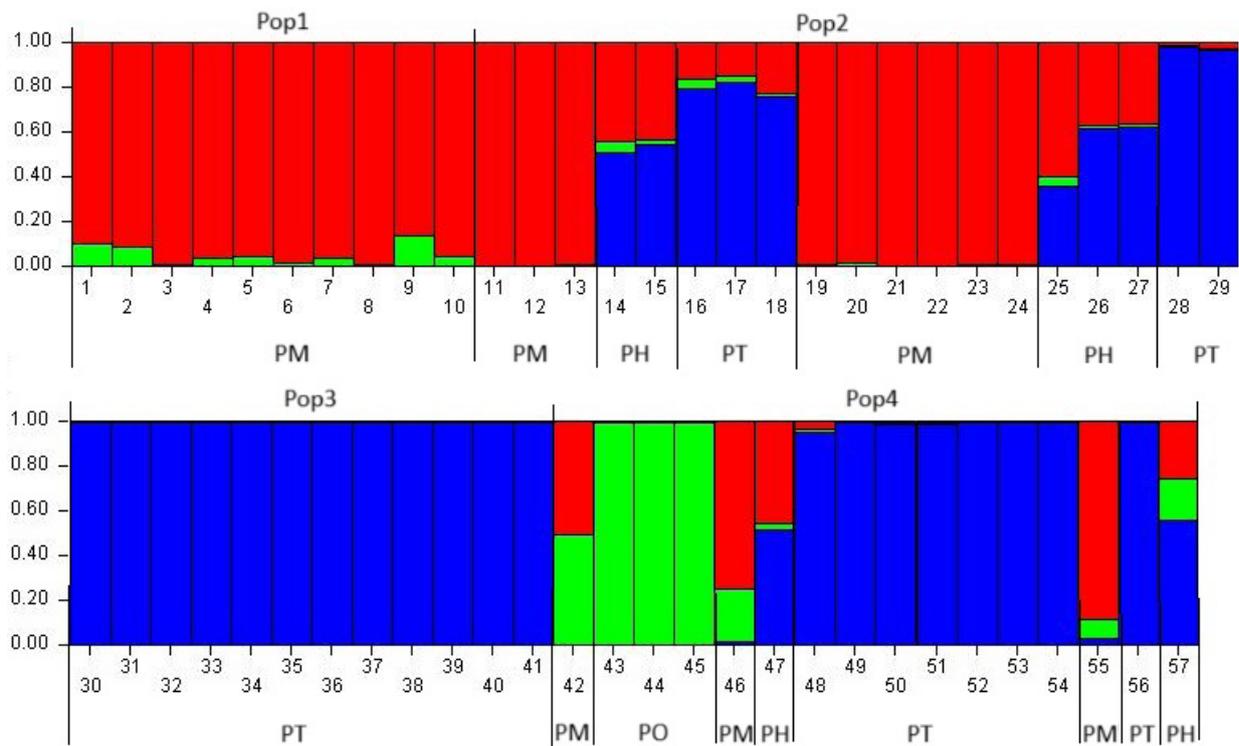


Рис. 2 / Fig. 2. Генетическая структура изученных популяций прострелов (при $K = 2$). По оси X – номера образцов и обозначения популяций, по оси Y – доля частот соответствующего кластера. Буквами обозначены виды: PT – *Pulsatilla turczaninowii*; PM – *P. multifida*; PO – *P. orientali-sibirica*; PH – предполагаемые гибриды.

Фрагментный анализ методом ISSR-PCR показал слабое внутривидовое генетическое разнообразие видов *P. multifida* и *P. turczaninowii*. Между тем, полученные результаты указывают на гибридное происхождение нескольких образцов во второй популяции (окр. с. Чемала) (образцы 14, 15, 25, 26, 27). Исследование морфологии этих образцов подтверждает это. Вилы *P. multifida* и *P. turczaninowii* хорошо отличаются друг от друга по рассечению пластинки прикорневых листьев. У *P. multifida* – пальчаторассеченные, у *P. turczaninowii* – трижды-непарно-перисторассеченные. Так, образцы 14, 15, 25, 26, 27 морфологически, несомненно, близки к *P. turczaninowii*. Прикорневые листья их перисто-рассеченные, но с меньшим количеством боковых сегментов (рис. 4). Цветки синевато-фиолетовые, но меньше по размерам, чем у *P. turczaninowii*.

Сложнее интерпретируются результаты анализа четвертой популяции. В ней, помимо *P. turczaninowii* и *P. multifida*, присутствует *P. orientali-sibirica*. Гибридный образец (57) отличался от *P. turczaninowii* меньшим количеством боковых сегментов. Кроме того, внешняя сторона цветка имела характерный синеватый оттенок, внутренняя – желтоватый. Генетические различия между *P. multifida* и *P. orientali-sibirica*, хотя и минимальные, были также отмечены. Для выявления более значимых отличий между этими видами потребуются отдельные исследования с большей выборкой, поэтому в данном исследовании мы намеренно не берёмся делать выводы по этим таксонам.

Дополнительно мы секвенировали ITS фрагменты семи образцов *P. multifida*, *P. turczaninowii*, а также гибридные образцы. Выровненная последовательность их ITS фрагмента имела длину

554 п. н. Виды *P. multifida* и *P. turczaninonii* отличались 13 видоспецифичными нуклеотидными заменами: 2 транзиции A/G и G/A, 7 C/T; 2 трансверсии C/A и A/C; 1 T/A, 1 G/T. Предполагаемые гибриды характеризовались наличием полиморфных сайтов в позициях 54, 316, 366, 408, 472, 517, 538, 546, что подтверждает нашу точку зрения на происхождение изучаемых об-

разцов от скрещивания *P. multifida* и *P. turczaninonii* (табл. 3). На филогенетическом дереве гибридные образцы оказались ближе к виду *P. turczaninonii* (рис. 5).

Основываясь на морфологических и молекулярно-генетических данных, мы предлагаем к обнаружению новый для науки нотовид:

Таблица 3. Полиморфные сайты в ITS фрагменте ядерной ДНК исследуемых образцов *Pulsatilla*

Вид/позиция	9	17	40	54	55	58	71	73	77	80	159	316	366	379	406	408	472	517	538	546
	C	G	C	A	C	C	A	C	C	C	C	C	G	-	C	T	T	C	G	C
<i>P. multifida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-
<i>P. multifida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-
Гибрид (14)	-	K	-	R	A	-	C	-	-	-	-	Y	R	-	T	Y	W	Y	K	Y
Гибрид (15)	Y	-	-	R	A	-	C	Y	-	-	T	T	A	G	T	-	W	Y	T	Y
Гибрид (25)	-	-	-	R	A	-	C	-	-	-	Y	Y	R	G	Y	Y	W	Y	K	Y
<i>P. turczaninonii</i>	-	-	Y	G	A	T	C	-	M	T	T	T	A	G	T	-	A	T	T	T
<i>P. turczaninonii</i>	Y	-	Y	G	A	Y	C	Y	M	T	T	T	A	G	T	-	A	T	T	T

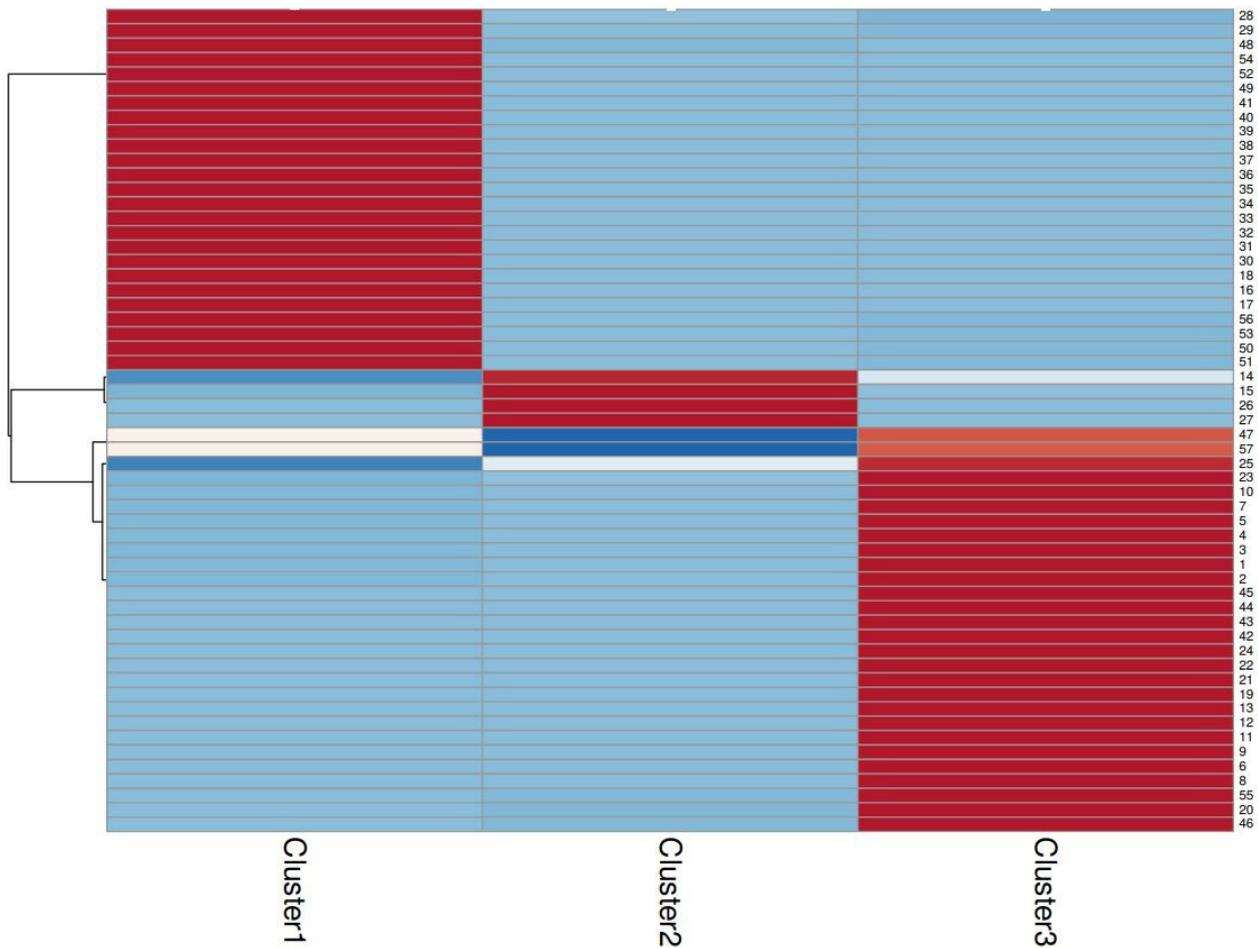


Рис. 3 / Fig. 3. Тепловая карта сходства популяций прострелов (ClustVis).

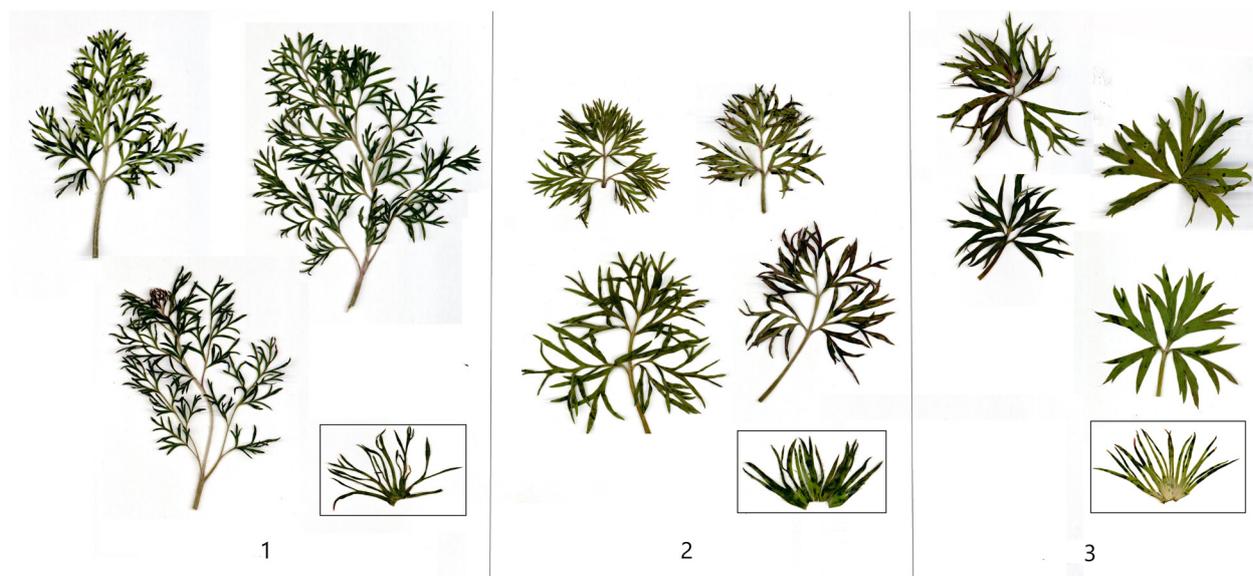


Рис. 4 / Fig. 4. Форма пластинки прикорневых листьев и мутовки стеблевых листьев прострелов из окр. с. Чемала (2 популяция): 1 – *Pulsatilla turczaninovii*; 2 – *P. chemalensis*; 3 – *P. multifida*.

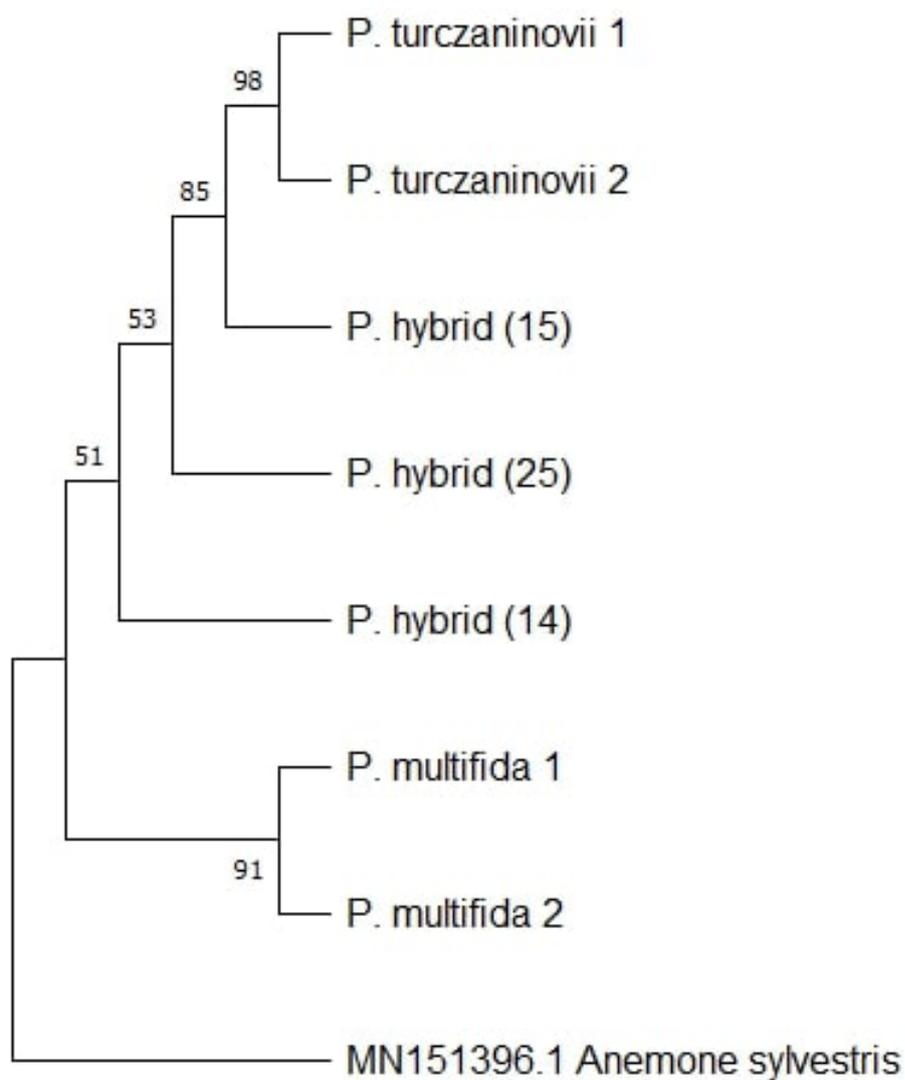


Рис. 5 / Fig. 5. Филогенетическое дерево, построенное на основе ITS фрагмента ядерной ДНК для образцов второй популяции (MEGAX).



Рис. 6 / Fig. 6. Внешний вид *Pulsatilla chemalensis*.

***Pulsatilla chemalensis* Zaikov et Shmakov, notosp. nov.**

Herbaceous taproot multi-headed perennial. Generative shoots are 18–25 cm high, lengthening when bearing fruits. The plant body is pubescent with soft white hair. Basal leaves are rosette, petiolate. The leaf blade is broadly ovate in outline, randomly odd-pinnately dissected. Segments of the 1st order are broadly ovate in outline, odd-pinnately dissected. Segments of the 2nd order are linear, entire or, less often, trifoliate-dissected, 0.7–1.5 cm wide. Stem leaves (involucre) of the generative shoot are sessile, a complex whorl of three palmately dissected leaves fused at the base. Their segments are entire, rarely with 2–3 lobes at the apex. The peduncle (the part of the generative shoot above the wrapper) is straight or slightly curved, with a flower 34–45 mm long. The flower is erect. The perianth is simple, consisting of

6 light lilac leaflets about 30 mm long and 7–10 mm wide, appressed-pubescent on the abaxial (outer) side and naked on the adaxial (inner) side. The androecium contains nectar-bearing staminodes at the base, the higher ones are replaced by large numbers of stamens with yellow anthers. The gynoecium consists of a large number of tightly compressed final carpels. The fruit is a polynutlet. Nutlets with a long beak covered with silky-pubescent white simple hairs (fig. 6).

Holotype: “Russia, Republic of Altai, Chemal district, Katun river valley, right bank, 2 km south of Chemal village, steppe slope and rock outcrops, 51°22'26.62"N, 86°01'09.50"E, h = 436 m above sea level. 9 V 2024. A. I. Shmakov, A. V. Anisimov, V. F. Zaykov. SHAZ No. 73” (ALTB1100082975, iso – ALTB1100083258).



Рис. 7 / Fig. 7. Голотип *Pulsatilla chemalensis* (ALTB 1100082975).

Distribution: occurs in places of contact of parental species. Republic of Altai.

Relationship: differs from *P. multifida* in the odd-pinnate, rather than palmate, blade of the basal leaves; from *P. turczaninovii*, partly consists of pairs of lateral segments of the basal leaves and almost always entire segments of the whorled leaves.

Травянистый стержнекорневой многоглавый многолетник. Генеративные побеги 18–25 см выс., при плодах удлинющиеся. Растение целиком опушено белыми мягкими волосками. Прикорневые (розеточные) листья черешчатые. Листовая пластинка в очертании широкояйцевидная, дважды непарно-перисторассечённая. Сегменты 1-го порядка в очертании широкояйцевидные непарно-перисторассечённые. Сегменты 2-го порядка линейные цельные или, реже, тройчаторассечённые, 0,7–1,5 см ширины. Стеблевые листья (обёртка) генеративного побега сидячие, формируют мутовку из трёх в основании сросшихся пальчато-рассечённых листьев. Их сегменты цельные, редко на верхушке с 2–3 лопастями (рис. 4). Цветоножка (часть генеративного побега выше обёртки) в период цветения прямая или слегка изогнутая, 34–45 мм длины. Раскрытый цветок прямостоячий. Околоцветник простой из 6 светло-сиреневых листочков около 30 мм дл. и 7–10 мм шир., с абаксиальной (внешней) стороны прижато-опушённых, с адаксиальной (внутренней) – голых. Андроец в основании имеет многочисленные нектароносные стаминодии (метаморфозированные тычиночные нити), выше сменяемые большим числом тычинок с жёлтыми пыльниками. Гинецей из большого числа плотно

сжатых свободных плодolistиков. Плод – многоорешек. Орешки длинными носиком шелковисто-опушённые белыми простыми волосками (рис. 6).

Голотип: «Россия, Республика Алтай, Чемальский р-н, долина р. Катунь, правый берег, 2 км южнее с. Чемал, оstepненный склон и выходы скал, 51°22'26.62" с. ш. 86°01'09.50" в. д., h = 436 м над ур. м. 9 V 2024. А. И. Шмаков, А. В. Анисимов, В. Ф. Зайков. ШАЗ № 73» (ALTB 1100082975, изо – ALTB 1100083258) (рис. 7).

Распространение: Республика Алтай. Встречается в местах контакта родительских видов.

Родство: от *P. multifida* отличается непарно-перисторассечённой, а не пальчаторассечённой пластинкой прикорневых листьев, от *P. turczaninovii* – меньшим количеством пар боковых сегментов прикорневых листьев и почти всегда цельными сегментами мутовчатых листьев.

Благодарности

Исследование выполнено по Программе развития Алтайского государственного университета на 2021–2030 годы в рамках реализации программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» – проект «ДНК-маркеры хозяйственно ценных, редких и исчезающих видов растений» – В. Ф. Зайков; согласно темам отдела «Гербарий высших растений» Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (рег. номер: АААА-А19-119031290052-1; рег. номер: ААА-А18-118022090078-2) – В. И. Дорофеев; в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № АААА-А21-121011290024-5 – С. Ю. Панкратов.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Akeroyd J. R.** 1993. *Pulsatilla* Miller. In: T. G. Tutin, N. A. Burges, A. O. Chater et al. (eds.). *Flora Europaea*. Vol. 1. Cambridge: Cambridge University Press. Pp. 264–266.
- Bakin O. V.** 2005. About the genus *Pulsatilla* Mill. (Ranunculaceae) in the flora of Tatarstan. *Trudy Volzhsko-Kamskogo gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika [Proceedings of Volzhsko-Kamsky National Nature Biosphere Reserve]* 6: 193–198. [In Russian] (**Бакун О. В.** О роде *Pulsatilla* Mill. (Ranunculaceae) во флоре Татарстана // Труды Волжско-Камского государственного природного заповедника, 2005. Т. 6. С. 193–198).
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J.** 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14(8): 2611–2620.
- Ly H. Z., So S. K., Kim M. Y.** 2011. A new hybrid species of *Pulsatilla* (Ranunculaceae): *P. × yanbianensis* H. Z. *Lv. Korean J. Pl. Taxon.* 41(4): 365–369. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2011.41.4.365>
- Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S., Tamura K.** 2024. Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molec. Biol. Evol.* 41, 12: 1–9.
- Kutsev M. G., Uvarova O. V., Sinitsyna T. A.** 2014. Set of synthetic oligonucleotides for amplification and sequencing its1-5,8s-its2 of vascular plant. *Russian patent* No. RU 258063 C1. Bul. No. 25. [In Russian] (**Куцев М. Г., Уварова**

О. В., Синуцына Т. А. Набор синтетических олигонуклеотидов для амплификации и секвенирования ITS1-5.8s-ITS2 сосудистых растений // Патент № RU 258063 С1. Бюл. № 25).

Li Q.-J., Wang X., Wang J.-R., Su N., Zhang L., Ma Y.-P., Chang Z.-Y., Zhao L., Potter D. 2019. Efficient identification of *Pulsatilla* (Ranunculaceae) using DNA barcodes and micro-morphological characters. *Front. Plant Sci.* 10: 1–12 e1196. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01196>

Ly H.-Z., So S., Kim M. 2011. A new hybrid species of *Pulsatilla* (Ranunculaceae): *P. × yanjianensis* H.Z. *Lv. Korean J. Pl. Taxon.* 41(4): 365–369. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2011.41.4.365>

Metsalu T., Vilo J. 2015. Clustvis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucl. Acids Res.* 43(W1): W566–W570. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv468>.

Pinaeva Y., Beltyukova N., Prishnivskaya Y., Sultangazina G., Beishova I., Ulianov V., Beishov R. 2020. Molecular Genetic Analysis of a Rare Plant Species *Pulsatilla patens* (L.) Mill. of Northern Kazakhstan. *Bull. Sci. Prac.* 6: 29–37. [In Russian] (**Пинаева Ю. Ю., Бельтюкова Н. Н., Пришивская Я. В., Султангазина Г. Ж., Бейшова И. С., Ульянов В. А., Бейшов Р. С.** Молекулярно-генетический анализ редкого вида растения *Pulsatilla patens* (L.) Mill. Северного Казахстана // Бюл. науки и практики, 2020. Т. 6. С. 29–37). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/54/03>

Pritchard J. K., Donnelly M. S. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 2: 945–959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>

Punina E. O., Mikhaylova Yu. V., Shneyer V. S., Krapivskaya E. E., Machs E. M., Rodionov A. V. 2024. Intra-genomic polymorphism of the 35S rDNA internal transcribed spacers (ITS) in three species and three interspecific hybrids of *Pulsatilla* (Ranunculaceae). *Turczaninowia* 27, 4: 67–85. [In Russian] (**Пунина Е. О., Михайлова Ю. В., Шнейер В. С., Крапивская Е. Е., Мачс Э. М., Родионов А. В.** Внутригеномный полиморфизм внутренних транскрибируемых спейсеров 35S рДНК (ITS) у трёх видов и трёх межвидовых гибридов *Pulsatilla* (Ranunculaceae) // *Turczaninowia*, 2024. Т. 27, № 4. С. 67–85). <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.27.4.8>

Punina E. O., Mikhaylova Yu. V., Shneyer V. S., Krapivskaya E. E., Rodionov A. V. 2019. Polymorphic sites in ITS1–5.8S rDNA–ITS2 region of nuclear 35S rRNA genes in interspecies hybrids of *Pulsatilla* (Ranunculaceae). *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*: 57–61. [In Russian] (**Пунина Е. О., Михайлова Ю. В., Шнейер В. С., Крапивская Е. Е., Родионов А. В.** Полиморфные сайты в ITS-районах ядерных генов 35S рРНК у межвидовых гибридов *Pulsatilla* (Ranunculaceae) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии», 2019. С. 57–61). <https://doi.org/10.14258/pbssm.2019010>

Sramko G., Laczko L., Volkova P. A., Bateman R. M., Mlinarec J. 2019. Evolutionary history of the Pasque-flowers (*Pulsatilla*, Ranunculaceae): Molecular phylogenetics, systematics and rDNA evolution. *Mol. Phylogenet. Evol.* 135: 45–61. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.02.015>

Stepanov N. V. 2014. Notes about some species of *Pulsatilla* L. (Ranunculaceae) from the Near-Yenisei Sayan Mountains. *Sist. Zametki Mater. Gerb. Krylova Tomsk. Gosud. Univ.* [Systematic notes on the materials of P. N. Krylov Herbarium of Tomsk State University] 109: 6–19. [In Russian] (**Степанов Н. В.** Заметки о некоторых видах *Pulsatilla* L. (Ranunculaceae) из приенисейских Саян // Сист. зам. Герб. Томск. ун-та, 2014. Т. 109. С. 6–19).

Sun Y.-L., Park W.-G., Oh H.-K., Hong S.-K. 2014. Genetic diversity and hybridization of *Pulsatilla tongkangensis* based on the nrDNA ITS region sequence. *Biologia* 69, 1: 24–31. <https://doi.org/10.2478/s11756-013-0284-1>

Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105–1109. <https://doi.org/10.1007/bf00037152>

Takaishi A., Kozhevnikov A., Kozhevnikova, Z., Ikeda H., Fujii N., Soejima A. 2019. Phylogeography of *Pulsatilla cernua* (Ranunculaceae), a grassland species, in Japan. *Ecol. Evol.* 9(12): 7262–7272. <https://doi.org/10.1002/ece3.5298>

Timokhina S. A. 1993. *Pulsatilla* Mill. In: *Flora Sibiri [Flora of Siberia]*. Vol. 6. Novosibirsk: Nauka. Pp. 149–155. [In Russian] (**Тимохина С. А.** *Pulsatilla* Miller – Прострел // Флора Сибири. Т. 6. Новосибирск: Наука, 1993. С. 149–155).

Valuyskikh O. E., Teteryuk L. V., Pylina Y. I., Sushentsov O. E., Martynenko N. A., Shadrin D. M. 2020. Phylogenetic relationships and status of taxa of *Pulsatilla uralensis* and *P. patens* s. str. (Ranunculaceae) in north-eastern European Russia. *PhytoKeys* 162: 113–130. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.162.53361>

Xue H., Xing Y., Bian C., Hou W., Men W., Zheng H., Yang Y., Yiung X., Kang T., Xu L. 2024. Comparative analysis of chloroplast genomes of *Pulsatilla* species reveals evolutionary and taxonomic status of newly discovered endangered species *Pulsatilla saxatilis*. *BMC Plant Biol.* 24: 293. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04940-w>

Yuzepchuk S. V. 1937. *Pulsatilla* Adans. In: *Flora SSSR [Flora of the USSR]* Vol. 7. Moscow; Leningrad: Publishers of Academy of Sciences of USSR. Pp. 285–307. [In Russian] (**Юзенчук С. В.** Род прострел – *Pulsatilla* Adans. // Флора СССР. Т. 7. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1937. С. 285–307).

Zaikov V. F., Kechaykin A. A., Skaptsov M. V., Smirnov S. V., Dorofeyev V. I., Anisimov A. V., Batkin A. A., Pankratov S. Yu., Shmakov A. I. 2024. Revision of the series *Bungeanae* of the genus *Pulsatilla* (Ranunculaceae) based on morphological and molecular genetic data. *Turczaninowia* 27, 2: 71–85. [In Russian] (**Зайков В. Ф., Кечайкин А. А., Скапцов М. В., Смирнов С. В., Дорофеев В. И., Анисимов А. В., Баткин А. А., Панкратов С. Ю., Шмаков**

А. И. Ревизия серии *Bungeanae* рода *Pulsatilla* (Ranunculaceae) на основе морфологических и молекулярно-генетических данных // *Turczaninowia*, 2024. Т. 27, № 2. С. 71–85). <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.27.2.9>

Zhang T., Xing Y., Xu L., Bao G., Zhan Z., Yang Y., Wang J., Li S., Zhang D., Kang T. 2019. Comparative analysis of the complete chloroplast genome sequences of six species of *Pulsatilla* Miller, Ranunculaceae. *Chin. Med.* 14, 53: 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0274-5>

Zhivotov V. V., Ryabova K. K., Yamskikh I. E., Stepanov N. V., Kutsev M. G. 2023. Genetic variability of populations of *Pulsatilla* species (Ranunculaceae) in the south of Yenisei Siberia. *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia* 22, 1: 146–149. [In Russian] (**Животов В. В., Рябова К. К., Ямских И. Е., Степанов Н. В., Куцев М. Г.** Генетическая изменчивость популяций видов р. *Pulsatilla* (Ranunculaceae) на юге Приенисейской Сибири // *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*, 2023. Т. 22, № 1. С. 146–149). <https://doi.org/10.14258/pbssm.2023028>