



УДК 582.572.226+577.21(571.1)

Морфологический и филогенетический анализ сибирских видов рода *Erythronium* (Liliaceae)

К. К. Рябова^{1, 2, 4*}, И. Е. Ямских^{1, 5}, Н. В. Степанов^{1, 6}, М. Г. Куцев^{3, 7}

¹ Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, д. 79, г. Красноярск, 660041, Россия

² Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», ул. Академгородок, д. 50, г. Красноярск, 660036, Россия

³ Алтайский государственный университет, пр. Ленина, д. 61, г. Барнаул, 656049, Россия

⁴ E-mail: ryabova.kseniya.k@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0009-0008-0896-4249>

⁵ E-mail: iyamskikh@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1424-9547>

⁶ E-mail: stepanov-nik@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0692-8796>

⁷ E-mail: m_kucev@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2284-6851>

* Автор для переписки

Ключевые слова: генетический анализ, ДНК-штрихкодирование, филогения, ITS, *rbcL*, *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*.

Аннотация. Статья посвящена сравнительному морфолого-генетическому анализу популяций сибирских видов рода *Erythronium*. Выявлены морфологические различия между видами *E. sajanense*, *E. sibiricum*, *E. sulevii*, заключающиеся в размерах и формах листьев, листочков околоцветника, тычиночных нитей. При проведении кластерного анализа отмечается четкое отделение популяций кандыка саянского по совокупности указанных признаков. ISSR-анализом установлено, что уровень генетического разнообразия в популяциях варьирует от 23 до 40 % и имеет максимальные показатели для популяций *E. sajanense*. Изученные популяции кандыков характеризуются высоким уровнем генетической дифференциации ($G_{st} = 0,5788$) и относятся к разным видам. На UPGMA-дендрограмме сходства отмечается достоверное отделение (индекс бутстрэпа 100 %) популяций *E. sajanense*, тогда как популяции *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют большее генетическое сходство. Анализ генотипов особей в программе STRUCTURE показывает разделение на 3 кластера, соответствующих исследуемым видам. Филогенетический анализ с использованием ITS и хлоропластных молекулярных маркеров (*rbcL*, *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*) выявил отсутствие различий в последовательностях *E. sibiricum* и *E. sulevii*. При сравнении участков ДНК *E. sajanense* с двумя другими видами обнаружены многочисленные однонуклеотидные замены, а также 1–24 нуклеотидные индели и дупликации, что четко обособляет данный вид на филогенетических деревьях. Проведенный комплексный морфолого-генетический анализ популяций сибирских видов кандыков доказывает самостоятельность вида *E. sajanense*. *Erythronium sulevii* отличается от *E. sibiricum* такими морфологическими параметрами, как цвет пыльников, размеры и форма листочков околоцветника, а также межмикросателлитными последовательностями, однако для уточнения его таксономического ранга требуются дальнейшие исследования.

Morphological and phylogenetic analysis of Siberian species of the genus *Erythronium* (Liliaceae)

K. K. Ryabova^{1,2}, I. E. Yamskikh¹, N. V. Stepanov¹, M. G. Kutsev³

¹ Siberian Federal University, Svobodny Ave., 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation

² Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Akademgorodok, 50, Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation

³ Altai State University, Lenina Ave., 61, Barnaul, 656049, Russian Federation

Keywords: DNA barcoding, genetic analysis, ITS, phylogeny, *rbcL*, *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*.

Summary. The article is devoted to comparative morphological and genetic analysis of populations of Siberian species of the genus *Erythronium*. Morphological differences between the species *E. sajanense*, *E. sibiricum*, *E. sulevii* have been determined, consisting of the sizes and shapes of leaves, perianth tepals, and stamen filaments. When conducting cluster analysis, a clear division of *E. sajanense* populations according to the set of indicated characteristics was noted. ISSR-analysis revealed that the level of genetic diversity in populations varies from 23 % to 40 % and has maximum values in *E. sajanense* populations. The studied populations of the genus *Erythronium* are characterized by a high level of genetic differentiation ($G_{st} = 0.5788$) and belong to different species. The UPGMA similarity dendrogram shows a significant separation (bootstrap index 100 %) of the *E. sajanense* populations, while the *E. sibiricum* and *E. sulevii* populations demonstrate greater genetic similarity. Analysis of the genotypes of individuals in the STRUCTURE program shows a division into 3 clusters corresponding to the studied species. Phylogenetic analysis using ITS and chloroplast molecular markers (*rbcL*, *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*) revealed no differences in the sequences of *E. sibiricum* and *E. sulevii*. Comparison of DNA regions of *E. sajanense* with two other species revealed numerous single nucleotide substitutions and 1–24 nucleotide indels and duplications that distinguish this species on phylogenetic trees. The conducted complex morphological and genetic analysis of populations of Siberian species of the genus *Erythronium* proves the independence of the species *E. sajanense*. *Erythronium sulevii* differs from *E. sibiricum* in the color of the anthers, the size and shape of the perianth leaflets, as well as internal microsatellite sequences; however, further research is required to clarify its taxonomic rank.

Введение

Род кандык (*Erythronium* L.), относящийся к семейству Liliaceae Juss., представлен ранневесенними декоративными геофитами и, по последним данным «World Flora Online», включает 33 вида (*Erythronium*, 2026). На территории Южной Сибири, включающей Алтайский и Красноярский края, Республики Алтай, Хакасия и Тыва, массово произрастают три вида: *Erythronium sajanense* Stepanov et Stassova, *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Krylov, *Erythronium sulevii* (Rukšāns) Stepanov. Все они являются эфемероидами, обладают эстетической привлекательностью и используются в ландшафтном дизайне. Луковицы кандыков имеют пищевую ценность. Выкапывание растений приводит к уменьшению численности популяций и угрожает существованию видов. Поэтому охрана представителей рода *Erythronium* имеет важное значение для сохранения биоразнообразия. Виды рода внесены в региональные Красные книги

Республик Хакасия (Leonova, Lavrinenko, 2012) и Тыва (Kleshcheva, 2018), Томской (Polozhiy, 2002), Новосибирской (Krasnikov, 2018), Кемеровской (Kupriyanov, 2021) областей, Алтайского (Terekhina, Копытина, 2016) и Красноярского (Stepanov, 2022) краев.

Erythronium sibiricum является реликтовым видом третичного периода, ранее был включен в предпоследнее издание Красной книги Российской Федерации (Kuvaev, 2008) как редкий вид (категория 3). В местах естественного произрастания охраняется в государственных природных заповедниках «Алтайский», «Хакасский», «Тигирекский», «Кузнецкий Алатау». В Южной Сибири его ареал расположен к западу от р. Енисей и включает Алтайский край, Республику Алтай, Кемеровскую, Томскую и Новосибирскую области, Хакасию и Красноярский край. Северо-восточная граница ареала вида находится в Козульском р-не Красноярского края. В Республике Алтай кандык сибирский – обычный вид. Произрастает в темнохвойных лесах, на лесных

опушках, у верхней границы леса, на высокогорных лугах, в тундрах (Рарина, 2012). Встречаются белоцветковые формы в окр. с. Ибрюль (Cherepnin, 1959).

Erythronium sajanense – реликт, внесенный в Красную книгу Красноярского края. Имеет статус вида с неуклонно сокращающейся численностью. Приурочен к Приенисейскому рефугиуму неморальной флоры: встречается в Ермаковском, Шушенском, Каратузском р-нах. Отмечен в Республике Хакасия. Произрастает в черневых, подтаежных и темнохвойных лесах, на лесных опушках, у верхней границы леса, на высокогорных лугах (Stepanov, 2022). От близкого *E. sibiricum* отличается формой и окраской листочков околоцветника, постепенно расширенными книзу тычиночными нитями, компактным рыльцем, очень малочисленными устьицами на верхнем эпидермисе (Stepanov, Stasova, 2011).

Erythronium sulevii происходит из северных предгорий Алтая, является горнолесным видом, обитающим в лесном и в высокогорном поясах. Видовое название получено от имени эстонского биолога Сависаара Сулева. Отличается от *E. sibiricum* пыльниками темно-фиолетового цвета и более близким к пыльнику расположением расширенной части тычиночной нити. *Erythronium sulevii* впервые был описан Я. Рукшансом в 2007 г. как подвид кандыка сибирского (*E. sibiricum* subsp. *sulevii*) (Rukšāns, 2007), а позднее был возведен в статус вида. *Erythronium sajanense* был описан Н. В. Степановым и В. В. Стасовой в 2011 г. (Stepanov, Stasova, 2011). В монографии «The Genus *Erythronium*» (Clennett, 2014) из сибирских видов учтен только *E. sibiricum*.

В недавно опубликованном перечне сосудистых растений Азиатской России *E. krylovii*, *E. sajanense*, *E. sulevii* приводятся как синонимы *E. sibiricum* (Cherpinoga et al., 2024). С учетом современных данных по генетике кандыков (Bartha et al., 2015) эта точка зрения представляется нелогичной, поскольку установлен факт большей близости *E. sajanense* к *E. japonicum*, чем к *E. sibiricum*. Каких-либо комментариев по границам таксонов не было представлено. Очевидно, ревизия рода в Азиатской России проводилась формально и поверхностно, без ознакомления с имеющимся материалом.

Цель исследования – обоснование видовой самостоятельности *E. sajanense* на основе сравнительного морфологического, популяционно-генетического и филогенетического анализов сибирских видов рода *Erythronium*.

Материалы и методы

Объектами исследований являются популяции сибирских видов рода *Erythronium*: *E. sajanense*, *E. sibiricum*, *E. sulevii*. Сбор материала проводился в мае – июне 2022–2023 гг. в предгорьях Алтая (окр. г. Белокуриха), на западных (окр. г. Кемерово) и восточных отрогах Кузнецкого Алатау (окр. пос. Коммунар), в северо-восточной части Западного Саяна (окр. пос. Майна, пос. Танзыбей, д. Большая речка; природный парк «Ергаки», кордон Таловка) (табл. 1, рис. 1).

Измерения морфометрических параметров для оценки внутри- и межпопуляционной изменчивости проводились на 30 генеративных особях из каждой популяции *E. sajanense*, *E. sibiricum*, *E. sulevii*. Для репрезентативности выборки использовался метод случайного отбора: по выбранной прямой линии, не повторяющей каких-либо определенных условий, отбиралось каждое седьмое растение (Shmidt, 1984). Измерены следующие параметры: длина верхней части цветоноса от листьев до цветка (X1); длина нижней части цветоноса от луковицы до листьев (X2); длина (X3) и ширина (X4) луковицы; длина (X5) и ширина (X6) нижнего листа; длина (X7) и ширина (X8) верхнего листа; длина (X9) и ширина (X10) листочка околоцветника; длина (X11) и ширина (X12) тычиночной нити; длина тычиночной нити от основания до сужения (X13); длина пыльника (X14); длина столбика и рыльца пестика (X15); длина листочка околоцветника от основания до белой окраски (X16). Так же вычислялись относительные признаки: соотношение длины верхней и нижней частей цветоноса (X1/X2); форма луковицы (X3/X4); форма нижнего листа (X5/X6); форма верхнего листа (X7/X8); форма листочка околоцветника (X9/X10); форма тычиночной нити, определяемая как отношение узкой части тычиночной нити к широкой [(X11-X13)/X13]; форма широкой части тычиночной нити (X13/X12); расположение белой окраски (X9/X16).

Для установления достоверных различий между средними значениями измеренных признаков использовался тест Тьюки (Tukey, 1949), позволяющий проводить попарные сравнения между средними значениями каждой группы, реализуемый в пакете «stats» для Rstudio версии 3.6.2. (R Core Team, 2012).

При проведении кластерного анализа расчеты выполнены на языке Python 3 в среде Google Colaboratory с использованием библио-

Таблица 1. Характеристика местообитаний изучаемых видов рода *Erythronium*

Вид (обозначение)	Название сообщества и местоположение	Состав древостоя	Доминирующие виды травяно-кустарничкового яруса	Координаты
<i>E. sibiricum</i> (Esib1)	Пихтово-осиновый лес (Кемеровская область, окр. г. Кемерово)	7Ос3П	<i>Anemone altaica</i> (10 %); <i>Erythronium sibiricum</i> (10 %); <i>Corydalis bracteata</i> (1 %)	55°31'29.1"N, 86°13'21.5"E
<i>E. sibiricum</i> (Esib2)	Смешанный березово- лиственнично-еловый лес разнотравно- осоковый (Хакасия, пос. Коммунар)	9Б1Л+Е	<i>Erythronium sibiricum</i> (10 %); <i>Carex arnellii</i> (20 %); <i>Brachypodium pinnatum</i> (15 %); <i>Filipendula ulmaria</i> (5 %)	54°20'43.6"N, 89°16'43.8"E
<i>E. sulevii</i> (Esul)	Сосняк разнотравно- осоковый (Алтайский край, окр. г. Белокуриха)	10С+Б	<i>Carex macroura</i> (50 %); <i>Anemone altaica</i> (15 %); <i>Fragaria vesca</i> (15 %); <i>Erythronium sulevii</i> (7 %)	51°59'16.1"N, 84°58'33.0"E
<i>E. sajanense</i> (Esaj1)	Сосняк разнотравно- осоковый (Хакасия, пойма р. Уй, окр. пос. Майна)	10С+Б	<i>Carex macroura</i> (40 %); <i>Erythronium sajanense</i> (3 %); <i>Pteridium pinetorum</i> (20 %); <i>Lilium pilosiusculum</i> (5 %)	53°00'53.3"N, 91°28'00.7"E
<i>E. sajanense</i> (Esaj2)	Черневой смешанный лес разнотравно- папоротниковый (Красноярский край, Ермаковский р-н, окр. д. Большая речка)	4Б4П2Ос+К	<i>Matteuccia struthiopteris</i> (20 %); <i>Anemone altaica</i> (10 %); <i>Erythronium sajanense</i> (3 %); <i>Anemone reflexa</i> (3 %)	53°15'39.2"N, 92°24'37.0"E
<i>E. sajanense</i> (Esaj3)	Черневая тайга (Красноярский край, Ермаковский р-н, окр. пос. Танзыбей)	4П4К2Ос	<i>Athyrium monomachii</i> (10 %); <i>Pteridium pinetorum</i> (12 %); <i>Pulmonaria mollissima</i> (15 %); <i>Erythronium sajanense</i> (2 %); <i>Anemone altaica</i> (10 %)	53°08'32.2"N, 92°56'35.2"E
<i>E. sajanense</i> (Esaj4)	Березово- лиственничный лес разнотравно-осоковый (Красноярский край, Ермаковский р-н, природный парк «Ергаки», кордон Таловка)	6Л4Б	<i>Carex macroura</i> (50 %); <i>Pteridium pinetorum</i> (15 %); <i>Corydalis bracteata</i> (10 %); <i>Erythronium sajanense</i> (10 %); <i>Anemone jenseensis</i> (5 %)	52°20'56.7"N, 93°10'27.3"E

тек NumPy, pandas, SciPy и Matplotlib. Поскольку признаки измерены в разных единицах и имеют различный масштаб, была проведена стандартизация методом z-оценок с помощью функции `zscore` библиотеки SciPy. На основе стандартизованных данных вычислена матрица евклидовых расстояний с использованием функций `pdist` (метрика `euclidean`) и `squareform` библиотеки SciPy. Кластерный анализ проведен методом UPGMA (функция `linkage` с параметрами `method='average'`, `metric='euclidean'`), дендро-

грамма построена функцией `dendrogram`. Качество дендрограммы оценено кофенетической корреляцией (`cophenet`), значение которой для UPGMA составило 0,9035, что свидетельствует о высоком воспроизведении исходных расстояний.

Исследования генетической изменчивости популяций и филогении проводились в лаборатории кафедры геномики и биоинформатики Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального универси-

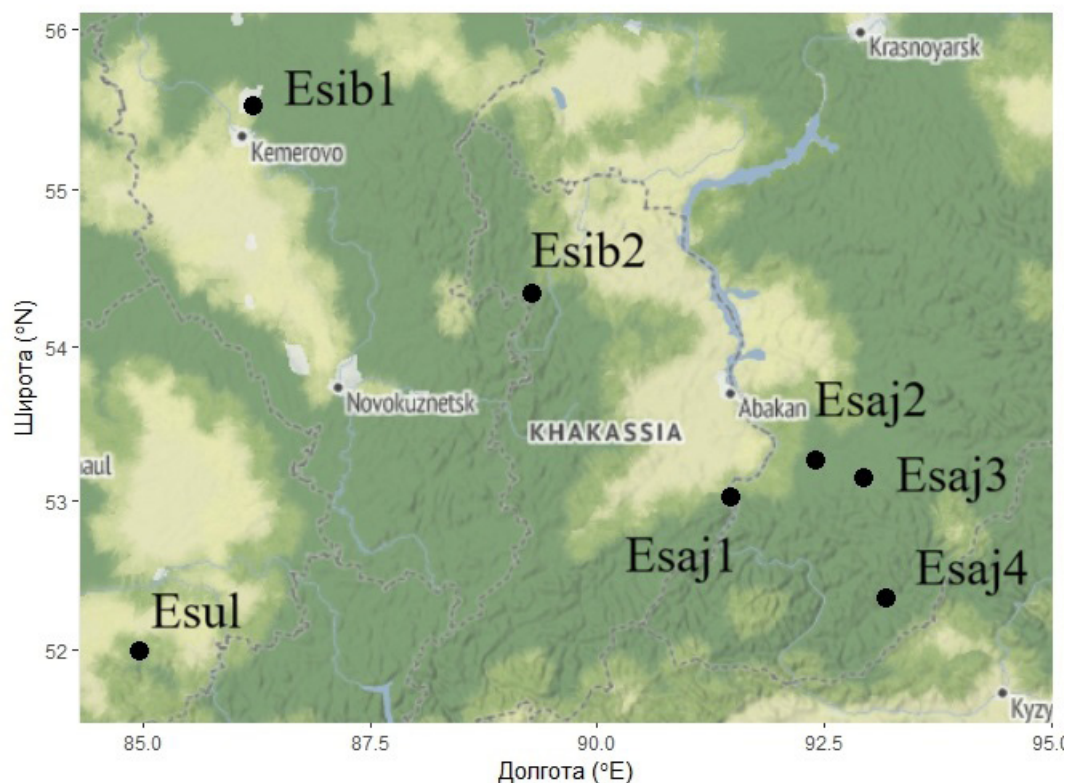


Рис. 1. Расположение изучаемых популяций видов рода *Erythronium* (нумерация в соответствии с табл. 1).

тета. Экстракцию тотальной ДНК производили с помощью коммерческого набора DiamondDNA (ООО «Научно-производственная фирма «Алтайбиотех»», г. Барнаул).

Для изучения генетической изменчивости использовался ISSR-PCR (Inter Simple Sequence Repeats) метод. Амплификацию проводили в 20 мкл реакционной смеси с помощью набора для проведения ПЦР с HS-Taq (+MgCl₂) (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск) в следующем составе: 6,1 мкл ddH₂O; 4 мкл 5x ПЦР буфер (+MgCl₂); 2 мкл 10 мкМ праймера; 0,2 мкл HS-Taq DNA-полимеразы (5 ед. акт. / мкл); 0,4 мкл 50x смеси dNTP; 2 мкл 50 мМ MgCl₂; 2 мкл ДНК (200–400 нг / мкл); 3,3 мкл буфера для нанесения на гель (x6). Программа амплификации: 95 °C – 5 мин; 13 циклов: 95 °C – 20 с; 55 °C – 45 с, понижение температуры на 0,7 °C в каждом последующем цикле; 72 °C – 90 с; 25 циклов: 95 °C – 20 с, 44 °C – 30 с, 72 °C – 90 с; 72 °C – 7 мин. Разделение продуктов амплификации производили в 1,3 % агарозном геле в горизонтальной электрофорезной камере в TAE-буфере при 220V с применением бромистого этидия. Визуализацию ДНК проводили в проходящем УФ-излучении в системе гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, USA).

Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали ДНК-маркеры (ООО «Биолабмикс», г. Новосибирск). ISSR-PCR-анализ проводился с праймерами, показавшими наибольший полиморфизм фрагментов ДНК.

С помощью программы Quantity One 1-D Analysis Software на электрофореграмме для каждого образца были отмечены бенды и составлена матрица наличия или отсутствия фрагментов ДНК одной длины. Полученную бинарную матрицу анализировали с помощью программ TFPGA version 1.3 и Popgene version 1.32. Для оценки уровня генетического разнообразия были рассчитаны такие параметры, как: процент полиморфизма (P), коэффициент подразделенности популяции (G_{st}), показатели внутрипопуляционного генетического разнообразия – генное разнообразие Нея (H_e) и индекс Шеннона (I_o).

Для оценки генетической структуры популяций на основе данных ISSR-PCR-анализа был использован байесовский подход (MCMC: Марковская цепь Монте-Карло), реализованный в программном обеспечении STRUCTURE версии 2.3.4. (Hubisz et al., 2009). Для большинства параметров мы установили значения по умолчанию (Pritchard, 2000). Использовалось длительное

выгорание (Burn-In) 150 000 и MCMC 450 000 циклов.

Для проведения филогенетического анализа были секвенированы следующие участки ядерной и пластидной ДНК: общепринятый молекулярный маркер – ITS-регион, включающий спейсерную область ITS1, ген 5,8S рРНК и спейсерную область ITS2, *rpoB-trnC* (между геном β -субъединицы РНК-полимеразы *rpoB* и геном, кодирующим тРНК-Cys), *trnT-trnL* (между генами тРНК-Thr и тРНК-Leu), *trnL-trnF* (между генами тРНК-Leu и тРНК-Phe) и *rbcL* (участок гена большой субъединицы рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы/оксигеназы). Используемые праймеры приведены в таблице 2.

Для построения филогенетических деревьев в NCBI были отобраны последовательности ITS-региона близкородственных видов: *Erythronium japonicum* Decne., *Erythronium dens-canis* L., *Erythronium caucasicum* Woronow. Следует отметить, что последовательности ITS-региона, *rpoB-trnC*, *trnT-trnL*, *trnL-trnF*, *rbcL* для *E. sulevii* опубликованы впервые (табл. 3).

Выравнивание последовательностей проводили с использованием алгоритма MUSCLE (Edgar, 2004), реализованного в программе MEGA X

(Kumar, 2018). Подбор модели нуклеотидных замен и построение филогенетического дерева производилось на веб-сервере IQ-TREE со значением параметра бутстрэпа 10000. Стратегия построения деревьев – Maximum Likelihood (ML). Позиции нуклеотидных замен в гене и межгенных спейсерах хпДНК отсчитывали от начала соответствующего участка полной последовательности пластидного генома MT261155 *E. japonicum*, тогда как для ITS-региона отсчет вели от начала последовательности KP684271 *E. japonicum*. В качестве аутгруппы использовался образец NC_034707 *Amana edulis* (Miq.) Honda для пластидных участков и MW922724 *A. edulis* для ITS-региона (Li et al., 2017). Инсерции и делеции любой длины были закодированы как одонуклеотидные транзиции. Топология дендрограмм по пластидным последовательностям совпадает, поэтому мы объединили их в консенсусное дерево.

Результаты

Оценку межпопуляционной и межвидовой изменчивости признаков *E. sajanense*, *E. sibiricum* и *E. sulevii* производили по 16 морфометрическим признакам и 8 относительным параметрам.

Таблица 2. Праймеры, их последовательности, использованные для секвенирования

Участок	Пары праймеров	Последовательность 5'–3'	Источник
ITS1-5,8S-ITS2	ITS-for	CGTAACAAGGTTTCCGTAG	Kutsev et al, 2014
	ITS-rev	GGAATCCTTGTAAGTTTCTTT	
<i>rpoB-trnC</i>	rpoBF	CCTTGATCAATGAACCTACAAAATC	Miikeda et al., 2006
	trnCR	ATTTGCAGTCCTCTGCCTTAC	
<i>trnT-trnL</i>	a	CATTACAAATGCGATGCTCT	Taberlet et al., 1991
	b	TCTACCGATTTCGCCATATC	
<i>trnL-trnF</i>	e	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	Taberlet et al., 1991
	f	ATTTGAACTGGTGACACGAG	
<i>rbcL</i>	1F	ATGTCACCACAAACAGAAAC	Olmstead et al., 1992
	724R	TCGCATGTACCTGCAGTAGC	Fay et al., 1997

Таблица 3. Номера секвенированных последовательностей ДНК в базе данных NCBI видов рода *Erythronium*

	ITS	<i>rpoB-trnC</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnT-trnL</i>	<i>rbcL</i>
<i>E. sajanense</i> (Esaj4)	PV121140	PV101224	PV101230	PV101227	PV113084
<i>E. sibiricum</i> (Esib1)	PV121141	PV101223	PV101229	PV101226	PV113083
<i>E. sulevii</i> (Esul)	PV121142	PV101222	PV101228	PV101225	PV113082

При сравнении морфологических параметров популяций кандыка с помощью критерия Тьюки выявлено минимальное количество достоверных различий (от 0 до 9) между четырьмя популяциями *E. sajanense* (табл. 4). Максимальные различия зафиксированы между хакасской

(Esaj1) и ермаковской (Esaj2) популяциями. Сходство морфологических признаков демонстрируют популяции Esaj2 и Esaj3. Изученные популяции отличаются в основном шириной (X6, X8) и формой листьев, а также формой листочка околоцветника. Хакасская популяция, наиболее удаленная от других, характеризуется более узкими листьями, короткими и узкими лепестками.

Максимальная длина цветоноса характерна для особей *E. sibiricum*. Длина двух листьев не имеет четких различий между изучаемыми видами, в отличие от ширины. Для особей *E. sajanense* характерны более широкие листья и отличная от других видов форма листа. Причем по данным признакам (X6, X8, X5/X6, X7/X8) кандык саянский достоверно отличается от кандыка сибирского и кандыка Сулева, тогда как между двумя последними видами различия минимальны (рис. 2).

Таблица 4. Количество достоверных различий морфометрических признаков между парами популяций видов рода *Erythronium* на основе критерия Тьюки

	Esib1	Esul	Esaj1	Esaj2	Esaj3
Esul	11				
Esaj1	11	13			
Esaj2	14	19	9		
Esaj3	12	15	6	0	
Esaj4	12	14	2	4	2

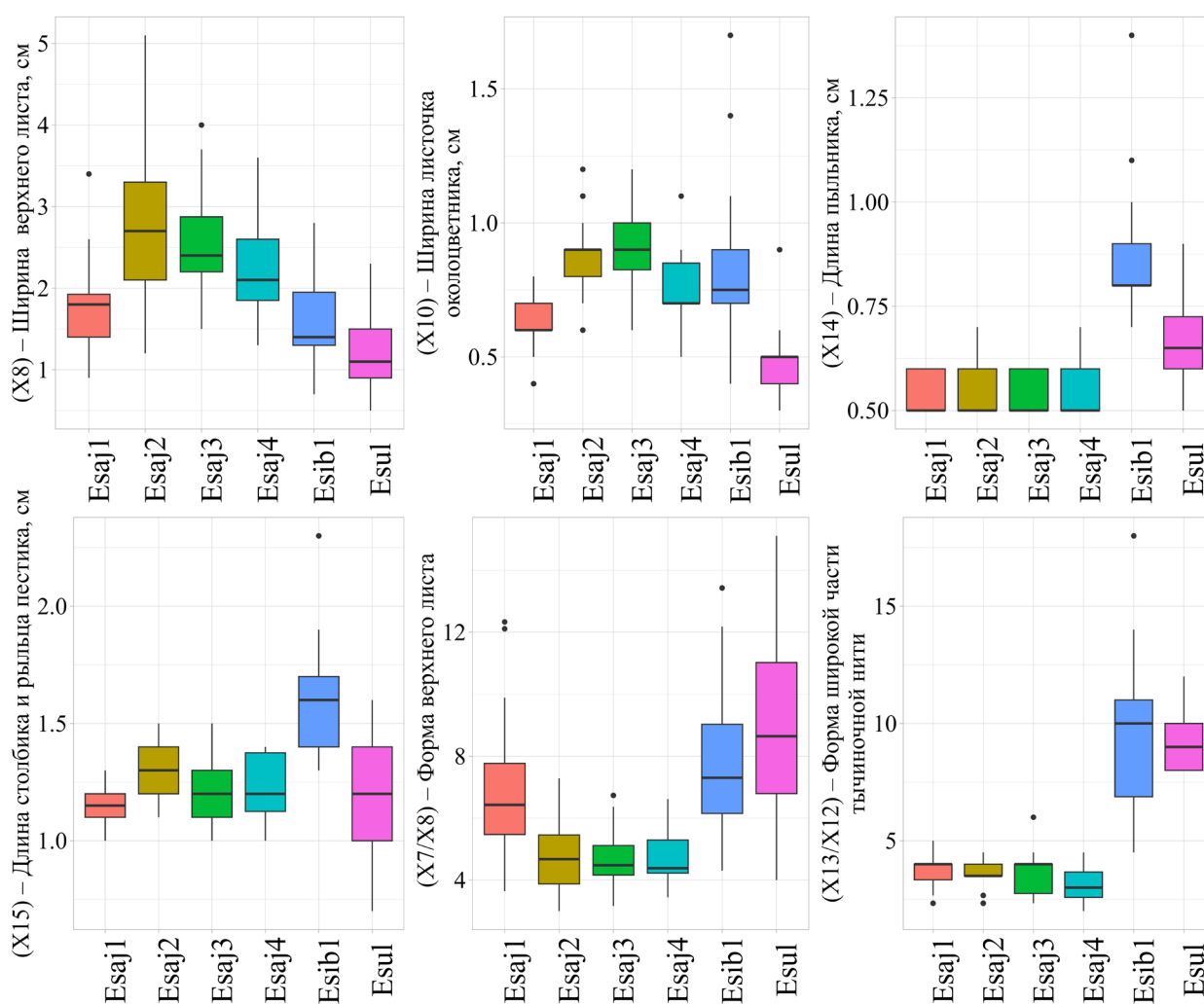


Рис. 2. Боксплоты распределений морфологических признаков популяций *Erythronium sibiricum*, *E. sulevii*, *E. sajanense*.

Наибольшую таксономическую значимость демонстрируют параметры цветка. Особи *E. sajanense* и *E. sibiricum* обнаруживают сходство в размерах лепестка, тогда как *E. sulevii* характеризуется более короткими и узкими лепестками. Важное значение имеют размер и форма тычинок, отличающие кандык саянский от двух других видов. Для него характерны широкие тычиночные нити, расширенные к основанию и затем резко сужающиеся, а также небольшие размеры пыльников. Важными особенностями *E. sulevii* являются темный цвет пыльников, узкие и короткие тычиночные нити. Для *E. sibiricum* отмечается максимальная длина пыльника и столбика с рыльцем (рис. 2).

При проведении кластерного анализа использован 21 морфометрический признак. Для приведения признаков, измеренных в разных единицах и имеющих различный масштаб, к сопоставимому виду была проведена стандартизация методом z-оценок, что обеспечило равный вклад всех признаков в многомерное расстояние.

На основе стандартизованных данных была вычислена матрица евклидовых расстояний между популяциями (табл. 5). Минимальное расстояние зафиксировано между популяциями Esaj2 и Esaj3 ($d = 3,247$), максимальное – между Esul и Esaj2 ($d = 10,627$). Евклидовы расстояния

Таблица 5. Матрица евклидовых расстояний между популяциями сибирских видов рода *Erythronium* (по 21 стандартизованному признаку)

	Esib1	Esul	Esaj1	Esaj2	Esaj3
Esul	7,494	0,000			
Esaj1	7,751	6,257	0,000		
Esaj2	8,712	10,627	5,829	0,000	
Esaj3	7,525	8,931	4,745	3,247	0,000
Esaj4	8,524	8,838	3,706	5,099	4,226

между видами составляют от 6,257 (Esul/ Esaj1) до 10,627 (Esul/ Esaj1), а между популяциями – от 3,247 (Esaj2/ Esaj3) до 5,829 (Esaj1/ Esaj2), что значительно ниже межвидовой дифференциации.

Кластерный анализ методом UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) по стандартизованным признакам показал четкое разделение исследованных популяций на три группы, соответствующие трем видам (рис. 3). Кофенетическая корреляция для дендрограммы UPGMA составила 0,9035, что свидетельствует о высоком качестве воспроизведения исходных расстояний.

На дендрограмме (рис. 3) популяции *E. sajanense* (Esaj1–Esaj4) формируют отдельный

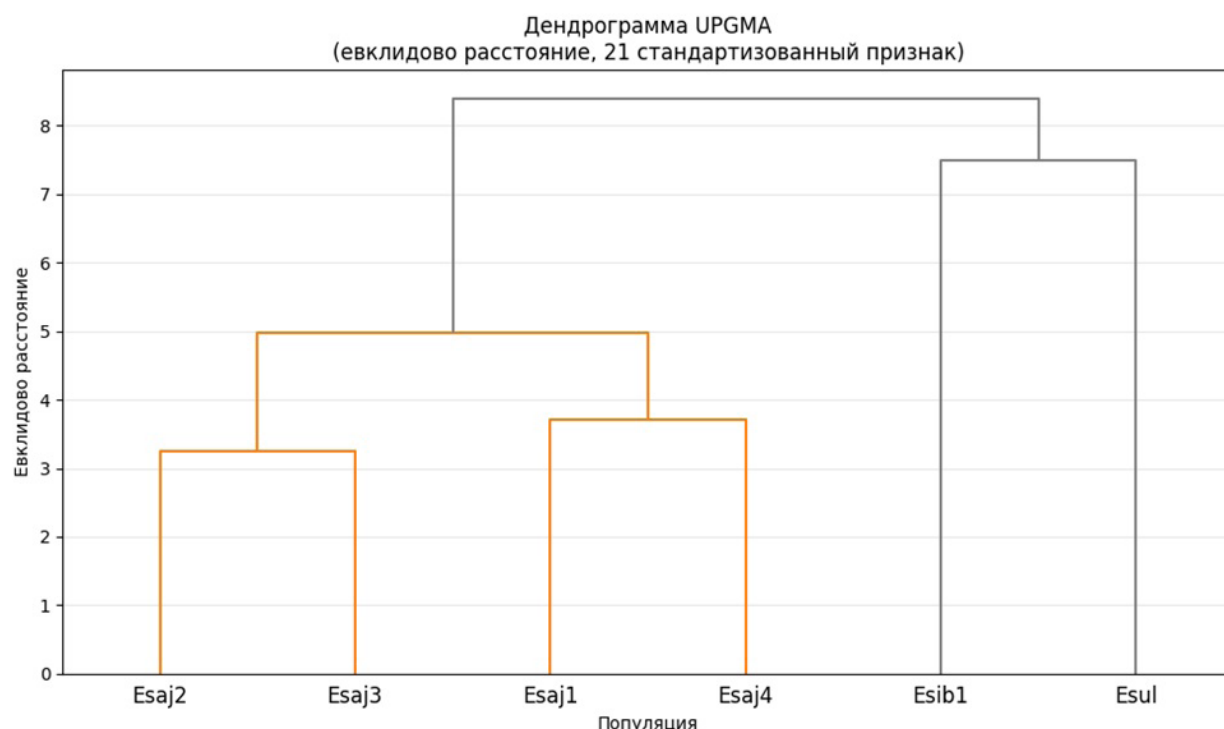


Рис. 3. Дендрограмма сходства популяций сибирских видов рода *Erythronium*, построенная методом UPGMA на основе евклидовых расстояний по 21 стандартизованному морфометрическому признаку.

кластер, внутри которого обособляются две под-группы: Esaj2 и Esaj3 ($d = 3,247$), а также Esaj1 и Esaj4 ($d = 3,706$). Популяции *E. sibiricum* (Esib1) и *E. sulevii* (Esul) объединяются в отдельную ветвь ($d = 7,494$). Морфометрический анализ подтверждает обособленное положение *E. sajanense* относительно *E. sibiricum* и *E. sulevii*. При этом *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют большее морфологическое сходство между собой, чем с *E. sajanense*.

При проведении ISSR-PCR-анализа дополнительно использовалась хакасская популяция кандыка сибирского (Esib2). При амплификации с шестью ISSR-праймерами выявлен 91 ампликон. В зависимости от праймера число амплифицированных фрагментов ДНК варьировало от 9 (ISSR-9) до 23 (HB12). Максимальный уровень полиморфизма ДНК зафиксирован при использовании праймеров 17899A, 17899B, ISSR-9 (100 %).

Уровень генетического полиморфизма в популяциях относительно низкий и находится в диапазоне от 23 до 40 %. Максимальное значение параметров генетического разнообразия характерно для популяций из Ергаков: Esaj1 ($P = 40$ %;

$H_e = 0,128$; $I_o = 0,194$) и Esaj4 ($P = 40$ %; $H_e = 0,149$; $I_o = 0,220$), минимальное – для кемеровской популяции Esib1 ($P = 23$ %; $H_e = 0,087$; $I_o = 0,129$) (табл. 6).

Изученные популяции характеризуются высоким уровнем генетической дифференциации ($G_{st} = 0,5788$), следовательно, в исследованной выборке достоверно присутствуют разные виды. Генетические дистанции Нея (Nei, 1972) (D) минимальны при сравнении популяций одного вида, что вполне естественно. Так, между популяциями кандыка саянского данный параметр варьирует от 0,04 до 0,08, а дистанция между двумя популяциями кандыка сибирского равна 0,07. Наибольшие значения генетических дистанций Нея наблюдаются между популяциями *E. sajanense* и *E. sibiricum* (0,28–0,37), а также *E. sajanense* и *E. sulevii* (0,31–0,36). Меньшие генетические различия зафиксированы между *E. sibiricum* и *E. sulevii* (0,2–0,23) (табл. 7).

Дендрограмма сходства (рис. 4) показывает достоверное объединение четырех популяций *E. sajanense* и их четкое отделение от двух других видов. Популяции видов *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют более тесное родство и объеди-

Таблица 6. Сравнительная характеристика амплифицированных фрагментов ДНК популяций видов рода *Erythronium*, изученных ISSR-PCR методом

ISSR-праймер	Последовательность (5'→3')	Число (процент) полиморфных фрагментов ДНК							Общее число фрагментов	
		Esib1	Esib2	Esul	Esaj1	Esaj2	Esaj3	Esaj4	Всего	Полиморфных
HB12	(CAC) ₃ GC	6	6	10	10	9	10	12	23	21 (88 %)
		26 %	26 %	43 %	43 %	39 %	43 %	52 %		
HB13	(GAG) ₃ GC	0	0	0	2	3	0	1	15	7 (47 %)
		0 %	0 %	0 %	13 %	20 %	0 %	7 %		
HB14	(CTC) ₃ GC	3	3	2	1	1	1	1	18	11 (61 %)
		17 %	17 %	11 %	6 %	6 %	6 %	6 %		
17899A	(CA) ₆ AG	6	7	7	10	11	8	10	13	13 (100 %)
		46 %	54 %	54 %	77 %	85 %	62 %	77 %		
17899B	(CA) ₆ GG	4	8	8	10	5	6	9	13	13 (100 %)
		31 %	62 %	62 %	77 %	38 %	46 %	69 %		
ISSR-9	(ATG) ₆	2	6	5	3	4	3	3	9	9 (100 %)
		22 %	67 %	56 %	33 %	44 %	33 %	33 %		
Всего		21 23 %	30 33 %	32 35 %	36 40 %	33 36 %	28 31 %	36 40 %	91	73 (80 %)

Таблица 7. Генетические дистанции Нея (Nei, 1972) между популяциями видов рода *Erythronium* на основе ISSR-PCR-анализа

	Esib1	Esib2	Esul	Esaj1	Esaj2	Esaj3
Esib2	0,0672					
Esul	0,2014	0,2347				
Esaj1	0,3593	0,3177	0,3465			
Esaj2	0,3173	0,2843	0,3148	0,0703		
Esaj3	0,3695	0,3376	0,3621	0,0633	0,0406	
Esaj4	0,3512	0,3229	0,3451	0,0736	0,0824	0,112

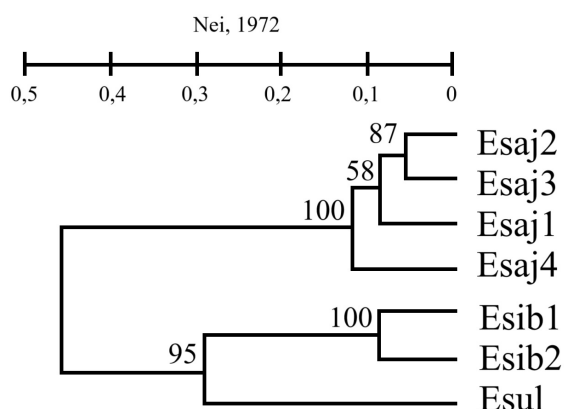


Рис. 4. Дендрограмма сходства популяций видов рода *Erythronium* на основе данных ISSR-PCR-анализа.

няются с коэффициентом бутстреп-поддержки 95 %. Однако популяция кандыка Сулева также обособляется от двух популяций кандыка сибирского.

Анализ структуры распределения генотипов особей в программе STRUCTURE показывает, что исследуемые образцы видов рода *Erythronium* максимально можно разделить на четыре генетических кластера (рис. 5). На диаграмме вероятностей отнесения каждого образ-

ца к двум кластерам прослеживается разделение особей на две группы: *E. sibiricum* совместно с *E. sulevii* и четыре популяции *E. sajanense*. При $K = 3$ выделяются три изучаемых вида. При $K = 4$ наблюдается генетическая гетерогенность вида *E. sajanense*, внутри которого обособляются близко расположенные популяции Esaj2 и Esaj3 из окр. д. Большая речка и пос. Танзыбей Ермаковского района.

Анализ секвенированных последовательностей ДНК показал, что на участке ITS между исследуемыми видами обнаружены делеции из 1 и 3 нуклеотидов для *E. sibiricum* и *E. sulevii*, а также 22 однонуклеотидные замены, из которых 17 – транзиции (табл. 8). При анализе участков хлоропластной ДНК последовательности *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют полную идентичность, тогда как для *E. sajanense* отмечается значительное количество нуклеотидных замен. На участке *rbcL* выявлено 4 отличия, из которых 3 транзиции и 1 трансверсия, не приводящие к замене аминокислот в белке. На участке *trnL-trnF* для *E. sajanense* выявлено 3 трансверсии, 1 транзиция и протяженная вставка в 24 нуклеотида, а также однонуклеотидные вставка и делеция. На участке *rpoB-trnC* у *E. sibiricum* и *E. sulevii* обнаружена 1 трансверсия, 1 транзиция и 1 дупликация протяженного участка из 24 нукле-

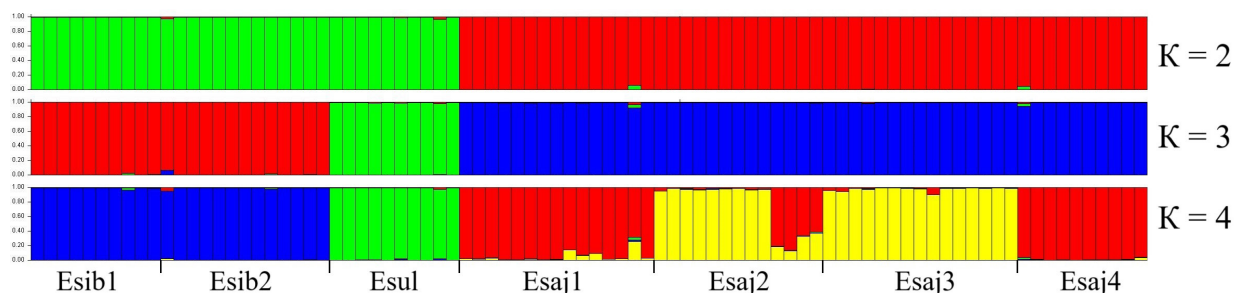


Рис. 5. Апостериорные вероятности отнесения образцов видов рода *Erythronium* к генетическим кластерам на основе ISSR-PCR-анализа.

Таблица 8. Вариабельность ITS-последовательностей ДНК видов
Erythronium sibiricum, *E. sulevii*, *E. sajanense*

Участок	ITS 1									5.8S		ITS 2													
Положение относительно КР684271 <i>E. japonicum</i>	126	127	171-173	184	191	200	206	210	212	353	368	413	416	442	452	453	514	527	541	551	561	577	598	625	
<i>E. japonicum</i>	G	T	TAT	A	C	C	T	A	A	C	K	C	G	C	C	C	G	C	C	C	A	G	G	C	
<i>E. sajanense</i>	C	C	TGT	A	T	T	T	A	T	T	A	A	A	T	T	T	G	T	T	T	A	G	A	T	
<i>E. sibiricum</i>	G	T	-	G	C	C	C	G	A	C	G	C	G	C	C	C	T	C	C	-	G	A	G	C	
<i>E. sulevii</i>	G	T	-	G	C	C	C	G	A	C	G	C	G	C	C	C	T	C	C	-	G	A	G	C	

Примеч.: Нумерация позиций осуществляется от первого нуклеотида последовательности КР684271 *E. japonicum*.

отидов (TATAAATGGAATGAATTAATAAAA) в положении с 225 по 248 нуклеотид относительно МТ261155 *E. japonicum*, а также 6-нуклеотидная делеция (ATCACT) в положении 403–408 (табл. 9).

Также множество нуклеотидных замен выявлено при анализе межгенного спейсера *trnT-trnL*. Данный участок у *E. sajanense* характеризуется 6 трансверсиями, 1 транзицией, 10 и 7 – нуклеотидными вставками и 8-нуклеотидной делецией (табл. 10).

При построении филогенетического дерева на основе ITS-региона, имеющего наибольшее количество однонуклеотидных замен (SNP) в исследуемых образцах, наблюдается достоверное

объединение сибирских и дальневосточных видов в одну кладу. Причем *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют полную идентичность, тогда как *E. sajanense* достаточно обособлен и входит в одну субкладу с *E. japonicum*. Отдельную кладу формируют европейские виды *E. dens-canis* и *E. caucasicum* (рис. 6).

При построении консенсусного филогенетического дерева на основе межгенных участков *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL* и участка гена *rbcL* наблюдается достоверное объединение *E. sibiricum* и *E. sulevii*. *Erythronium sajanense* занимает обособленное положение в кладе сибирских кандыков и имеет меньшее генетическое сходство с *E. japonicum* (рис. 7).

Таблица 9. Вариабельность последовательностей *trnL-trnF* и *rpoB-trnC* ДНК видов
Erythronium sibiricum, *E. sulevii*, *E. sajanense*

Участок	<i>trnL-trnF</i>							<i>rpoB-trnC</i>				
Положение относительно МТ261155 <i>E. japonicum</i>	61	81	121	129–152	154	155	161	225–248	281	289	342	403–408
<i>E. japonicum</i>	T	C	T	–	T	A	–	TATAAATGGAATGAATTAATAAAA	A	G	C	ATCACT
<i>E. sajanense</i>	T	C	T	ATTATCTT ACTTTT AGTCCCTA	C	T	–	–	–	G	A	ATCACT
<i>E. sibiricum</i>	–	A	G	–	T	A	T	TATAAATGGAATGAATTAATAAAA	A	A	C	–
<i>E. sulevii</i>	–	A	G	–	T	A	T	TATAAATGGAATGAATTAATAAAA	A	A	C	–

Таблица 10. Вариабельность последовательностей *rbcL* и *trnT-trnL* участков ДНК видов *Erythronium sibiricum*, *E. sulevii*, *E. sajanense*

	<i>rbcL</i>				<i>trnT-trnL</i>									
Положение относительно MT261155 <i>E. japonicum</i>	108	174	225	336	15	47–56	125	132	236	251	322–328	367	399–406	420
<i>E. japonicum</i>	C	C	C	T	C	ACTACTATAT	A	T	A	G	–	G	–	C
<i>E. sajanense</i>	C	C	T	T	T	ACTACTATAT	T	G	A	T	TATATTG	T	–	C
<i>E. sibiricum</i>	T	T	C	G	C	–	A	T	T	G	–	G	TTCAAGTT	A
<i>E. sulevii</i>	T	T	C	G	C	–	A	T	T	G	–	G	TTCAAGTT	A

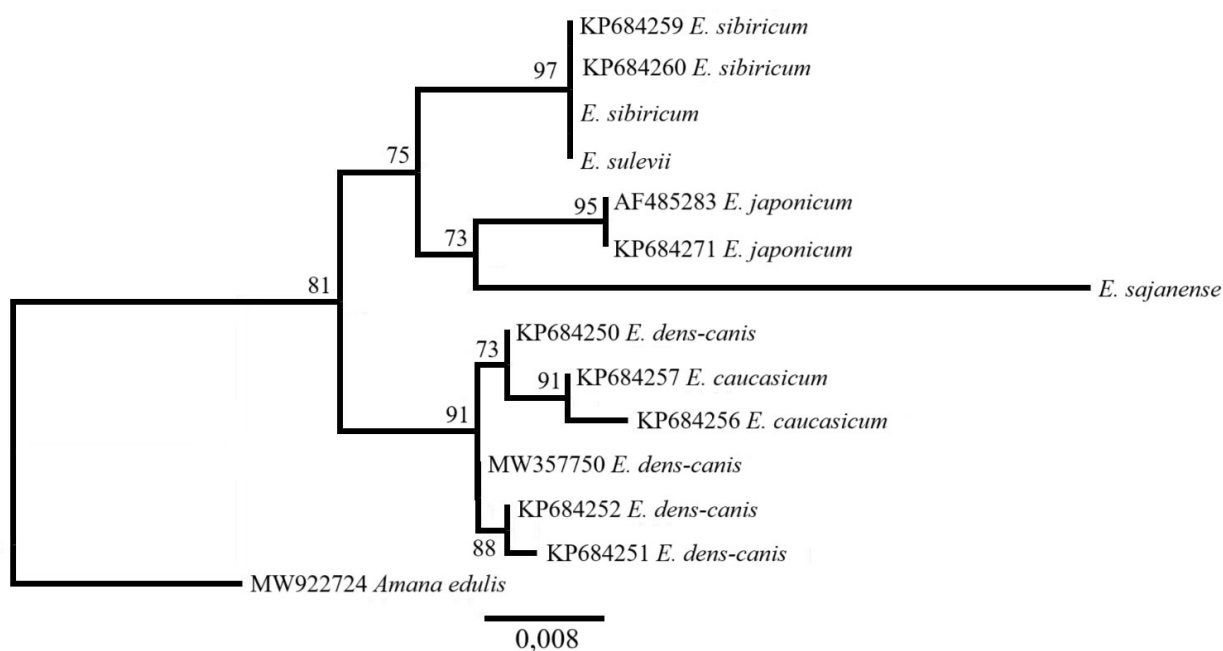


Рис. 6. Филогенетическое дерево видов рода *Erythronium*, построенное на основании сравнения последовательностей ITS-региона методом максимального правдоподобия (ML). Цифрами обозначены значения бутстрэпа.

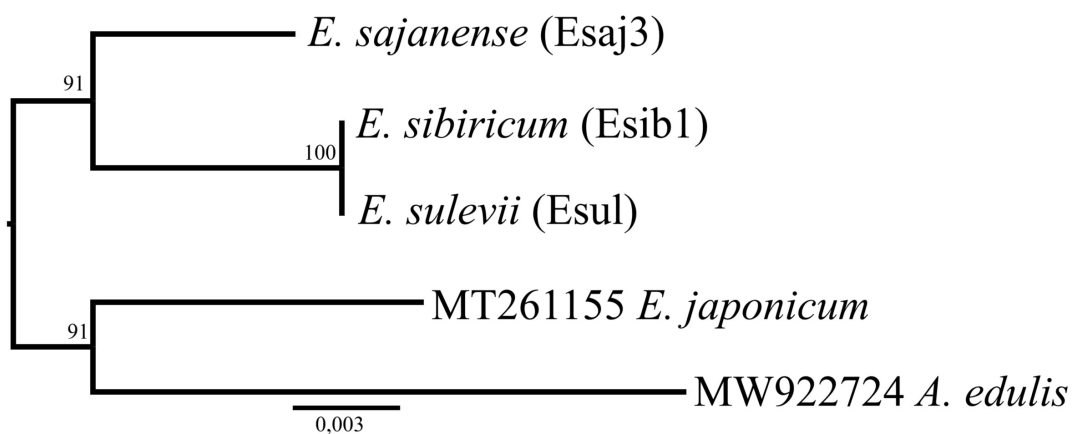


Рис. 7. Филогенетическое дерево видов рода *Erythronium*, построенное на основе межгенных участков *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL* и участка гена *rbcL* методом максимального правдоподобия (ML).

Обсуждение

Таким образом, проведенный нами комплексный анализ популяций сибирских видов рода *Erythronium* показал близкое родство *E. sibiricum* и *E. sulevii* и четкое обособление *E. sajanense*. Важными особенностями *E. sulevii* являются темный цвет пыльников, узкие и короткие листочки околоцветника и тычиночные нити. Для *E. sibiricum* отмечается максимальная длина цветоноса, пыльника и столбика с рыльцем. Значительные морфологические отличия от вышеназванных видов демонстрирует кандык саянский. Для особей всех его популяций характерны относительно широкие листья, листочки околоцветника, тычиночная нить клиновидной формы, укороченные пыльники. Большая часть отличительных признаков *E. sajanense* указана в статье Н. В. Степанова и В. В. Стасовой (Stepanov, Stasova, 2011) и подтверждена нами на популяционном материале. Также следует отметить морфологическое сходство географически близких популяций кандыка саянского, произрастающих в окр. пос. Танзыбей и окр. д. Большая Речка.

Проведенные нами молекулярно-генетические исследования также свидетельствуют о самостоятельности вида *E. sajanense*. ISSR-анализ установил наличие в выборке разных видов, о чем свидетельствуют высокое значение коэффициента подразделенности популяций ($G_{st} = 0,5788$) и максимальные значения генетических дистанций Нея между видами *E. sajanense* и *E. sibiricum* (0,28–0,37), а также *E. sajanense* и *E. sulevii* (0,31–0,36). Полученные результаты хорошо проиллюстрированы на дендрограмме сходства популяций и при генетической кластеризации особей кандыков (рис. 4, 5), где мы видим четкое и достоверное отделение популяций *E. sajanense* от двух других видов. Однако следует отметить, что между популяциями *E. sibiricum* и *E. sulevii* также отмечаются генетические различия ($D = 0,2–0,23$), но уже на более низком уровне (Nei, 1972).

Филогенетический анализ, проведенный с использованием ITS и комплекса хлоропластных маркеров, также демонстрирует множественные отличия в последовательностях *E. sajanense* от двух других видов, что также является доказательством его самостоятельности. Причем это не только однонуклеотидные замены, но и крупные индели в 1–24 нуклеотида. В общей сложности в изученных последовательностях обнаружено 39 SNP и 9 инделей и 1 дупликация протяженного

участка. Наиболее информативными являются регион ITS1-5,8S-ITS2, а также межгенные спейсеры хлоропластной ДНК *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*. Отличий в последовательности ДНК между видами *E. sibiricum* и *E. sulevii* не обнаружено, что отражено на филогенетических деревьях.

Таким образом, комплексный популяционный анализ трех видов рода *Erythronium* показал четкую морфологическую и генетическую обособленность вида *E. sajanense*, приводимого в последнем перечне сосудистых растений Азиатской России в качестве синонима *E. sibiricum* (Chepinoga et al., 2024). Популяции *E. sibiricum* и *E. sulevii* также демонстрируют некоторые морфологические и генетические отличия на уровне межмикросателлитных последовательностей. Однако эти отличия не столь сильные. К тому же наблюдается полное сходство в изученных последовательностях ДНК этих двух видов.

Заключение

Проведенный морфологический анализ популяций сибирских видов рода *Erythronium* показал, что кандык саянский отличается от *E. sibiricum* и *E. sulevii* формой и размерами листьев, листочков околоцветника, широкой тычиночной нитью, имеющей клиновидную форму и укороченными пыльниками. Важными особенностями *E. sulevii* являются темно-фиолетовый цвет пыльников, узкие и короткие листочки околоцветника и тычиночные нити. Для *E. sibiricum* отмечается максимальная длина цветоноса, пыльника и столбика с рыльцем.

Проведенный ISSR-PCR-анализ показал, что уровень генетического разнообразия в популяциях кандыков варьирует от 23 до 40 %. Изученные популяции характеризуются очень высоким уровнем генетической дифференциации ($G_{st} = 0,5788$), что свидетельствует о наличии в исследуемой выборке разных видов. На дендрограмме сходства отмечается достоверное отделение (индекс бутстрепа 100 %) популяций *E. sajanense*, тогда как популяции *E. sibiricum* и *E. sulevii* демонстрируют большее генетическое сходство.

В ходе филогенетического анализа с использованием ITS и хлоропластных ДНК-маркеров (*rbcL*, *rpoB-trnC*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*) не обнаружено различий в последовательностях *E. sibiricum* и *E. sulevii*. При сравнении участков ДНК *E. sajanense* с двумя другими видами выявлены многочисленные однонуклеотидные

замены, а также 1–24 нуклеотидные индели и дубликации, что четко обособляет данный вид на филогенетических деревьях. Все используемые нами молекулярные маркеры показали информативность и могут быть использованы при анализе видов рода *Erythronium*.

Таким образом, проведенный комплексный морфолого-генетический анализ популяций сибирских видов кандыков доказывает самостоятельность вида *E. sajanense*. *Erythronium sulevii* отличается от *E. sibiricum* некоторыми морфологическими параметрами, в том числе цветом пыльников, а также межмикросателлитными последовательностями. Однако для установле-

ния его таксономического ранга требуются дополнительные исследования большего количества популяций.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» по теме «Геномные, популяционные и метагеномные исследования лесных биоценозов. Таксономический и филогенетический анализ растительных сообществ лесных экосистем» № FWES 2025 0015.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Bartha L., Stepanov N. V., Rukšāns J., Banciu H. L., Keresztes L.** 2015. Non-monophyly of Siberian *Erythronium* (Liliaceae) leads to the recognition of the formerly neglected *Erythronium sajanense*. *J. Plant Res.* 128: 721–729. <https://doi.org/10.1007/s10265-015-0734-7>
- Chepinoga V. V., Barkalov V. Yu., Ebel A. L., Knyazev M. S., Baikov K. S., Bobrov A. A. et al.** 2024. Checklist of vascular plants of Asian Russia. *Bot. Pacifica* 13: 3–310. <https://doi.org/10.17581/bp.2024.13S01>
- Cherepnin L. M.** 1959. *Flora yuzhnoy chasti Krasnoyarskogo kraya* [Flora of the southern part of the Krasnoyarsk Territory]. Krasnoyarsk: Krasnoyarskoye knizhnoye izdatelstvo. 240 pp. [In Russian] (**Черепнин Л. М.** Флора южной части Красноярского края. Красноярск: Красноярское книжн. изд-во, 1959. 240 с.).
- Clennett C.** 2014. *The Genus Erythronium*. London: Kew Publishing. 250 pp.
- Edgar R. C.** 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic. Acids. Res.* 32(5): 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Erythronium* L. [2026]. *WorldFlora Online*. URL: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000013993#children> (Accessed 12 February 2026).
- Fay M. F., Swensen S. M., Chase M. W.** 1997. Taxonomic affinities of *Medusagyne oppositifolia* (Medusagynaceae). *Kew Bull.* 52: 111–120.
- Hubisz M. J.** 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 9 (5): 1322–1332.
- Kleshcheva E. A.** 2018. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841). In: *Krasnaia kniga Respubliki Tyva (zhivotnyye, rasteniya i griby)* [The Red Data Book of the Republic of Tyva: animals, plants and mushrooms] 2nd ed. Kyzyl: Favorit. P. 348. [In Russian] (**Клещева Е. А.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841) // Красная книга Республики Тыва (животные, растения и грибы). 2-е изд., перераб. Кызыл: Фаворит, 2018. С. 348).
- Krasnikov A. A.** 2018. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841). In: *Krasnaya kniga Novosibirskoy oblasti* [The Red Data Book of the Novosibirsk Region]. 3rd ed., revised and enlarged. Novosibirsk: Tipografiya A. Khristolyubova. P. 390. [In Russian] (**Красников А. А.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841) // Красная книга Новосибирской области. 3-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: Типография А. Христолюбова, 2018. С. 390).
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K.** 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kupriyanov O. A.** 2021. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. In: *Krasnaya kniga Kuzbassa* [The Red Data Book of the Kuzbass]. Vol. I. 3rd ed., revised and enlarged. Kemerovo: Vektor-Print. P. 68. [In Russian] (**Куприянов О. А.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. // Красная книга Кузбасса. Т. I. 3-е изд., перераб. и доп. Кемерово: ВЕКТОР-ПРИНТ, 2021. С. 68).
- Kutsev M. G., Uvarova O. V., Sinitsyna T. A.** 2014. *Nabor sinteticheskikh oligonukleotidov dlya amplifikatsii i sekvenirovaniya ITS1-5.8S-ITS2 sosudistyykh rasteniy*. Patent RF No. 2528063 ot 30.06.2014 [Set of synthetic oligonucleotides for the amplification and sequencing of ITS1-5.8S-ITS2 vascular plants. Patent of the Russian Federation № 2528063 of 30.06.2014]. [In Russian] (**Куцев М. Г., Уварова О. В., Синицына Т. А.** Набор синтетических олигонуклеотидов для амплификации и секвенирования ITS1-5.8S-ITS2 сосудистых растений // Патент РФ № 2528063 от 30.06.2014).

- Kuvaev V. B.** 2008. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. In: *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii. Rasteniya i griby* [The Red Book of the Russian Federation. Plants and fungi]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd. Pp. 319–320. [In Russian] (**Куваев В. Б.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. // Красная книга Российской Федерации. Растения и грибы. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. С. 319–320).
- Leonova T. V., Lavrinenko S. V.** 2012. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841). In: *Krasnaya kniga Respubliki Khakasiya: redkiye i ischezayushchiye vidy rasteniy i gribov* [The Red Data Book of the Republic of Khakassia: rare and endangered species of plants and fungi]. 2nd ed., revised and enlarged. Novosibirsk: Nauka. P. 100. [In Russian] (**Леонова Т. В., Лавриненко С. В.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1841) // Красная книга Республики Хакасия: редкие и исчезающие виды растений и грибов. 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: Наука, 2012. С. 100).
- Li P., Lu R.-S., Xu W.-Q., Ohi-Toma T., Cai M.-Q., Qiu Y.-X., Cameron K. M., Fu C.-X.** 2017. Comparative genomics and phylogenomics of East Asian tulips (*Amana*, Liliaceae). *Front. Plant Sci.* 8: 451. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00451>
- Miikeda O., Kita K., Handa T., Yukawa T.** 2006. Phylogenetic relationships of *Clematis* (Ranunculaceae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* 152: 153–168. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00551.x>
- Nei M.** 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283–292. <https://doi.org/10.1086/282771>
- Olmstead R. G., Michaels H. J., Scotts K. M., Palmer J. D.** 1992. Monophyly of the Asteridae and identification of their major lineages inferred from DNA sequences of *rbcL*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 249–265.
- Papina O. N.** 2012. Liliaceae. In: *Opredelitel rasteniy Respubliki Altay* [Key to the plants of the Republic of Altai]. Novosibirsk: Publishing house of the Siberian Branch of the RAS. Pp. 492–495. [In Russian] (**Панина О. Н.** Лилейные – Liliaceae // Определитель растений Республики Алтай. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. С. 492–495).
- Polozhiy A. V.** 2002. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. In: *Krasnaya kniga Tomskoy oblasti* [The Red Data Book of the Tomsk Region]. Tomsk: Izdatelstvo Tomskogo universiteta. P. 258. [In Russian] (**Положий А. В.** *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. // Красная книга Томской области. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 2002. С. 258).
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P.** 2004. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- R Core Team** [2012]. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria; R Foundation for Statistical Computing. URL: <http://www.R-project.org/>
- Rukšāns J.** 2007. *Buried Treasures: Finding and Growing the World's Choicest Bulbs*. Portland: Timber Press. 460 pp.
- Shmidt V. M.** 1984. *Matematicheskiye metody v botanike* [Mathematical methods in botany]. Leningrad: Izdatelstvo Leningradskogo universiteta. 288 pp. [In Russian] (**Шмидт В. М.** Математические методы в ботанике. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1984. 288 с.).
- Stepanov N. V.** 2022. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1929). In: *Red data book of the Krasnoyarsk Territory. Vol. 2. The rare and endangered species of wild plants and funguses. 3rd edition, revised and enlarged*. Krasnoyarsk: Siberian Federal University. P. 269. [In Russian] (**Степанов Н. В.** Кандык сибирский – *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. (1929) // Красная книга Красноярского края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений и грибов. Т. 2. Красноярск: Сибирский фед. ун-т, 2022. С. 269).
- Stepanov N. V., Stasova V. V.** 2011. About new taxon of the genus *Erythronium* (Liliaceae) from Western Sayan. *Bulletin of KGAU* 8: 58–63. [In Russian] (**Степанов Н. В., Стасова В. В.** О новом таксоне рода кандык (*Erythronium* – Liliaceae) из Западного Саяна // Вестник КрасГАУ, 2011. № 8. С. 58–63).
- 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>
- Terekhina T. A., Kopytina T. M.** 2016. *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. In: *Krasnaya kniga Altayskogo kraya. Redkiye i nakhodyashchiyesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidy rasteniy i gribov* [The Red Data Book of the Altai Territory. Rare and endangered species of plants and fungi]. Vol. 1. Barnaul: Izdatelstvo Altayskogo universiteta. Pp. 126–127. [In Russian] (**Терехина Т. А., Копытина Т. М.** *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C. A. Mey.) Kryl. – кандык сибирский // Красная книга Алтайского края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. Т. 1. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2016. С. 126–127).
- Tukey J. W.** 1949. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics* 5(2): 99–114. <https://doi.org/10.2307/3001913>