

На правах рукописи

МАЛЫХ СЕРГЕЙ ЮРЬЕВИЧ

РОД *DRYOPTERIS* ADANS. В РОССИИ

1.5.9. Ботаника

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Пермь – 2023

Диссертационная работа выполнена на кафедре ботаники и генетики растений Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Научный руководитель: **Овеснов Сергей Александрович**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Суюндуков Ильгиз Варисович**
доктор биологических наук, доцент, декан естественно-математического факультета Сибайского института (филиала) ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»

Письмаркина Елена Васильевна
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии и акклиматизации растений ФГБУН «Ботанический сад Уральского отделения РАН»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет» (г. Барнаул)

Защита диссертации состоится 22 февраля 2024 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.479.01 на базе ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий» по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Карла Маркса, д. 12, e-mail: disbiobsu@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологии», адрес сайта: <http://www.uust.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного
совета, к.б.н.



Григориади Анна Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Род *Dryopteris* встречается во многих флористических сводках различных стран (Фомин, 1934; Fraser-Jenkins, 1993; Stace, 2010), однако лишь изредка такие сводки рассматривают его всесторонне (Rünk K. et al., 2012). Как правило, свежие публикации по теме ограничиваются узким кругом вопросов: имеются данные по скорости гибридизации в естественных популяциях отдельных представителей рода Европейской территории (Hornych, 2019), некоторые данные по хромосомным числам и гибридизации видовых комплексов из Китая (Hori K. et al., 2018a; Hori K. et al., 2018b), а также генетического разнообразия видов из США (Bouchard et al., 2017). Последние крупные русскоязычные обработки рода вышли в 2003 и 2009 годах (Цвелев, 2003; Шмаков, 2009). В их основе лежал морфологический анализ вай. Работы не включали анализ ультраструктуры спор, а значения хромосомных чисел были заимствованы из литературы. Несмотря на большую работу, которая была проделана Н.Н. Цвелёвым и А.И. Шмаковым, ряд вопросов, касающихся внутривидовой изменчивости и установления ясных границ между отдельными видами *Dryopteris dilatata* комплекса, остались без ответа.

Степень разработанности темы. В настоящее время российских исследователей интересует в основном прикладная сторона работы с представителями рода: использование в различных отраслях промышленности (Савина, 2016), лекарственное применение (Чудновская, 2016; Лобанов, 2018), биоиндикация (Малюта, Гончаров, 2016). Работы, демонстрирующие комплексный подход (морфология вай, хромосомные числа, ультраструктура спор, анализ генетического разнообразия) к изучению рода *Dryopteris* на территории России, отсутствуют.

Цель исследования: критическая ревизия рода *Dryopteris* Adans. на территории России.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучение изменчивости морфологических структур у представителей рода *Dryopteris* на территории России и Европы.
2. Поиск соответствия между основными морфологическими структурами и данными, полученными в ходе проведения проточной цитометрии.

3. Проведение молекулярно-генетического анализа для установления генетической изменчивости трудноразличимых видов рода.

Научная новизна. Составлен конспект рода *Dryopteris* для территории России. Даны обновлённые морфологические описания видов, входящих в состав данного рода. Конспект основан на данных, полученных с применением современных научных подходов:

1. Сделаны макрофотографии спор представителей *Dryopteris dilatata* комплекса (*D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenk. & Jermy, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray и *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs) из различных регионов России и Европы. Ранее подобные данные не публиковались.

2. Для решения вопроса о присутствии *D. dilatata* на территории России был установлен размер генома и содержание ДНК у представителей *Dryopteris dilatata* комплекса из разных регионов России и Европы. Данная работа проведена с использованием метода проточной цитометрии. Ранее подобные данные не публиковались.

3. Для получения дополнительных доказательств нецелесообразности деления *D. expansa* s.l. на *D. expansa* s.s. и *D. assimilis* были проведены молекулярно-генетические исследования (ISSR-PCR) нескольких российских и европейских представителей *D. expansa*. Ранее подобные данные опубликованы не были.

Достоверность и апробация результатов. Достоверность результатов определяется научно обоснованными методами, которые были использованы в работе: сравнительно-морфологический и молекулярно-генетический.

Сравнительно-морфологический анализ базировался на выборке большого количества гербарных материалов (около 1000 образцов), многолетнем наблюдении отдельных растений и их популяций в природных условиях, работе с литературой. Молекулярно-генетический анализ проведён с привлечением следующего количества растительного материала: проанализирован полиморфизм 72 ISSR-PCR фрагментов ДНК 112 растений (8064 позиции). Результаты данного этапа работы были получены с применением современных методов анализа и обработки данных. Для осуществления большинства расчётов были использованы

программы: POPGENE 1.31, PAST 4.0, TREECON 1.3b, STATISTICA 12.0.

Результаты работы обсуждались на четырёх научных и научно-практических конференциях. Среди них одна Международная: «Камелинские чтения» (Пермь, 2019) и одна Всероссийская: «Исследования по Ботанике, Генетике и Микологии», посвященной 105-летию кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ и памяти заслуженных профессоров ПГНИУ В.А. Верещагиной и Е.И. Демьяновой» (Пермь, 2022).

Теоретическая и практическая значимость. Были выявлены диагностические и недиагностические признаки видов рода, установлены морфологические границы видов *Dryopteris dilatata* комплекса, определено число видов рода в России, составлены подробные морфологические описания и ключи для определения российских видов рода.

Помимо этого, результаты работы могут быть использованы для оценки генетической структуры и изменчивости других – неисследованных в настоящее время – представителей рода *Dryopteris* на территории России. Данные, изложенные в подглаве 4.4. диссертационной работы представляют ценность как материал, с которым можно сравнивать результаты ISSR-PCR, полученные при анализе генетической изменчивости любой группы папоротниковидных в России, а также как основа эффективного мониторинга состояния генофонда данного рода в любых регионах России.

Личный вклад автора. Все этапы исследования (за исключением получения фотографий ультраструктуры спор) были спланированы и выполнены автором настоящей работы лично: экспедиции для осуществления сбора растительного материала, проведение проточной цитометрии, анализ генетической изменчивости, интерпретация полученных данных, анализ результатов, подготовка текста и выводов диссертационной работы.

Для консультаций и помощи в проведении ряда расчётов были привлечены сотрудники лаборатории «Молекулярной биологии и генетики», а также сотрудники Южно-Сибирского ботанического сада. Тексты всех публикаций, отражающих основные положения, выносимые на защиту, были написаны автором, либо при активном его участии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. В соответствии с формулой специальности 1.5.9. Ботаника, включающей пункт 1: *теоретические проблемы происхождения, и развития растительного мира, его разнообразия, классификации и номенклатуры разных групп растений и растительных сообществ*, диссертационное исследование содержит оценку и ревизию видового разнообразия рода *Dryopteris* на территории России с применением как классических методов систематики, так и ряда современных подходов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Род *Dryopteris* в России представлен 16 эйдологическими единицами, которые имеют объективные отличительные черты и могут рассматриваться в ранге вида.

2. Основной системы рода *Dryopteris* должны выступать сведения о морфологических признаках видов, а также данные, полученные с использованием методов проточной цитометрии (содержание ДНК, плоидность) и молекулярно-генетического анализа (показатели информационно-энтропийной меры Шеннона и демографической дифференциации Нея).

3. Признаками рода *Dryopteris*, которые нельзя назвать диагностическими, являются: цвет, оттенок и характер поверхности пластинки вай; отношение длины черешка к длине пластинке вайи; форма, цвет и оттенок чешуй; наличие или отсутствие железистых волосков; способность вай сохраняться в зимний период.

Объем и структура диссертации. Работа содержит 135 страниц, 10 таблиц и 9 рисунков. Все рисунки, представленные в работе, выполнены автором лично. Структура стандартная: введение, обзор литературы (глава 1), принципы работы, объекты и методы исследований (глава 2), результаты и их обсуждение (главы 3, 4, 5), выводы и список использованной литературы. Последний блок данных (список литературы) содержит 186 источников, 114 из которых на иностранном языке. Приложения в работе отсутствуют.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 статей в рецензируемых периодических и продолжающихся изданиях. Среди них: 5 из списка, рекомендуемых высшей аттестационной комиссией для публикации результатов диссертаций, 1 статья в журнале из базы данных Scopus, а также 2 публикации в материалах научных мероприятий.

Связь работы с научными программами.

Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90102.

Благодарности. Автор работы выражает благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Овёснову С.А. за консультации и руководство диссертационной работой; сотрудникам лаборатории «Молекулярной биологии и генетики», а также инженеру кафедры Ботаники и генетики растений Чертову Никите Валерьевичу лично за помощь в освоении методов молекулярно-генетического анализа; сотрудникам Южно-Сибирского ботанического сада и Шмакову Александру Ивановичу лично за консультации и помощь в проведении экспериментов; научному сотруднику ФГБУ Государственный природный заповедник «Басеги» Зенковой Наталье Александровне, а также сотруднику отдела Гербария высших растений БИН РАН, к.б.н. Мельникову Денису Германовичу за помощь в организации экспедиций; коллегам по кафедре ботаники и генетики растений и лаборатории «Молекулярной биологии и генетики» за помощь в статистической обработке материала с использованием компьютерных программ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о виде у растений

Рассматриваются сложности работы с современным теоретически-зависимым концептом – *вид в биологии*. Показаны взгляды различных исследователей на то, что мы *можем* и *должны* называть видом. Приведены аргументы в пользу той точки зрения, которая станет основой для интерпретации результатов в настоящей диссертационной работе.

1.2. Теория о виде как иерархия концепций

Показано, что вид в ботанике, зоологии, микробиологии, микологии, палеонтологии и, наконец, в систематике – это существенно различающиеся понятия, не сводимые к общему знаменателю. В дополнение к этому обозначено, что в работе любого специалиста важно строгое разграничение теоретических и операциональных концепций: первые дают представление о том, *что есть вид*, вторые указывают на то, *как этот вид отличить* от других.

Смешивание данных концепций даёт искажённое представление о проблеме вида, поскольку в таком случае задача теоретического определения подменяется задачей практической видовой идентификации.

1.3. Специфика видообразования Polypodiophyta

Представлена специфика видообразования папоротниковидных – необходимый теоретический груз, определяющий правила работы с видами данной группы. Кратко перечислены способы видообразования, являющиеся своеобразными поставщиками различных групп растений с разной степенью как морфологической, так и репродуктивной обособленности.

1.4. Крупнейшие видовые комплексы рода *Dryopteris*

Обсуждаются два крупнейших видовых комплекса рода *Dryopteris* на территории России, а также некоторые эволюционные взаимоотношения внутри данных комплексов.

ГЛАВА 2. ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Принципы работы

Основным принципом работы является устранение субъективности при выделении таксонов видового ранга: *иррациональная сторона специалиста зачастую утверждает себя, но, если ведущая роль в исследовании отведена рациональному началу, это утверждение должно обращаться в миф. Апелляция к интуиции, ссылка на чутьё систематика или аргументация через очевидность в ключевых моментах работы недопустима, т.к. оставляет исследователя наедине с собой, со своими теоретическими построениями, где он, созерцая истину, чувствует себя свободным от обязанностей отвечать на критику.*

2.2. Регионы и объекты исследования

Исследование проводилось в период с 2015 по 2022 гг. Автором работы были осуществлены экспедиции с целью сбора гербарного материала и оценки способности вай к перезимовке. Полевыми исследованиями охвачены Московская, Ленинградская и Мурманская области, Карачаево-Черкесская и Кабардино-Балкарская республики, Пермский и Ставропольский края, а также республика Карелия. Во всех перечисленных субъектах Российской Федерации осуществлялась оценка способности вай к перезимовке.

Сбор гербарного материала проходил везде, кроме республики Карелия. Всего за время исследования было собрано более 500 гербарных образцов, которые хранятся в коллекциях Пермского государственного университета (PERM) и Южно-Сибирского ботанического сада (ALTB).

2.3. Методы исследования

В работе использовались следующие методы:

1. Морфологический анализ вегетативных органов. При работе с гербарием, где представлена одна вайя с растения, довольно часто получается так, что образец обнаруживает признаки сразу двух сходных видов и определяется с трудом, либо не определяется вообще. В связи с этим в рамках данной работы был выбран метод сбора, который предполагал гербаризацию трех вай с одного растения, что позволило оценить диапазон изменчивости ряда спорных признаков, используемых в ключах для определения. Среди них: цвет, оттенок и характер поверхности пластинки вайи; отношение длины наибольших базальных сегментов 2-го порядка к длине базальных сегментов 1-го порядка; цвет и оттенок чешуек на черешке; наличие или отсутствие железистых волосков; длительность жизни вай и их способность к перезимовке.

Камеральная обработка материала проводилась на кафедре ботаники и генетики растений ПГНИУ и в лаборатории Южно-Сибирского ботанического сада: обработано более 1000 листов гербария (включая свежесобраный гербарный материал), некоторые образцы были переопределены.

2. Анализ ультраструктуры спор. Материал для анализа ультраструктуры спор был отобран из коллекции, хранящейся в Гербарии Южно Сибирского ботанического сада Алтайского государственного университета (ALTB). Работа проводилась в лаборатории Института водных и экологических проблем (ИФВЭ СО РАН, Барнаул) при помощи электронного сканирующего микроскопа Hitachi S 3400 N производства Hitachi High-Technologies Corp. Споры наносились на двусторонний углеродный скотч, прикрепленный на металлический предметный столик диаметром 10 мм. Поверхность спор в течение 5–6 минут обрабатывали золото-палладиевой смесью в вакуумном испарителе Emitech SC 7620 / QT S. Все образцы спор исследовались в высоком вакууме. Исследуемые образцы сканировали с увеличением $\times 400$ (общий вид спор).

3. Проточная цитометрия. Оценка содержания ДНК проводилось с использованием метода проточной цитометрии. Для этого изолированные ядра клеток окрашивались иодидом пропидия (PI). Окраска ядер DAPI не использовалась, поскольку данный краситель окрашивает преимущественно АТ-обогатённые участки дезоксирибонуклеиновой кислоты. Такие участки в животных и растительных клетках встречаются в разном количестве, из-за чего, при использовании данного метода, итоговые расчёты могут содержать неточности.

На первом этапе вайи измельчались лезвием и добавлялись к охлажденному буферу Otto I (500 мкл). Данный буфер содержал следующие модификации: 0,5% Triton и 0,1М лимонной кислоты. Далее измельчённые части растений инкубировались в таре с буфером при комнатной температуре примерно 10–15 минут. На следующем этапе образцы были отфильтрованы при помощи нейлоновой мембраны и смешаны с раствором для окрашивания, состоящим из: 1мл Tris-MgCl₂ (0,4М Tris-основание, 4 mM MgCl₂*6H₂O) с добавлением PI (50 мкг/мл), РНКазы (50 мкг/мл) и β-меркаптоэтанола (1 мкг/мл).

Данные флуоресценции ядер фиксировались при помощи проточного цитометра Partec CyFlow PA (Partec, GmbH) с лазерным источником излучения (длина волны 532 нм). Сигналы записывались с использованием логарифмической шкалы. Измерения каждого образца проводились не менее трёх раз с повторностью не более двух измерений в сутки.

4. Молекулярно-генетический анализ. При выделении ДНК для проведения ISSR-PCR использовался свежий материал и материал из гербария Южно-сибирского ботанического сада (АЛТВ): сбор свежего материала осуществлялся во время экспедиций (40 образцов из Пермского края, Московской, Смоленской и Тверской областей), отбор материала из гербария происходил путём изъятия визуально-пригодной для анализа части засушенной вайи (72 образца из различных регионов России, Европы и США).

Всего проанализирован полиморфизм 112 растений с пятью праймерами (560 проб). Для проверки достоверности полученных результатов постановка PCR повторялась не менее двух раз.

Компьютерный анализ полиморфизма ДНК и генетическая структура исследованных групп с вычислением доли (P_{95}) полиморфных локусов, абсолютного (n_a) числа аллелей, эффективного (n_e) числа аллелей, ожидаемой (H_E) гетерозиготности и информационно-энтропийной меры (I) Шеннона, проведены с помощью программы POPGENE 1.31. В дополнение к этому использовался пакет AMOVA (Analysis of Molecular Variance) с вычислением ФРТ-индекса (показателя подразделенности групп) с использованием 1000 раундов перестановок. Данный показатель был рассчитан с применением специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel. Для выявления структуры внутригруппового разнообразия применялись показатели внутринутригруппового разнообразия (μ) и доли редких морф (h).

Генетические расстояния между группами (D_N) определялись по формуле М. Нея. На основе матрицы бинарных признаков была рассчитана матрица генетических расстояний, после чего невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) были построены дендрограммы, отражающие степень сходства исследуемых популяций и отдельных особей по ISSR-PCR спектрам при помощи компьютерных программ Treecon 1.3b, POPGENE 1.31 и PAST 4.0.

ГЛАВА 3. ПОД *DRYOPTERIS ADANS.* В РОССИИ

В данной главе демонстрируется, что классический анализ изменчивости морфологических признаков показал недостаточность их использования (пусть даже в совокупности) при работе с некоторыми видами, объединяемыми в комплексы. К примеру, для работы с такими природными образованиями как *Dryopteris dilatata* комплекс и группа *filix-mas* требуется привлечение ряда неморфологических признаков: место произрастания растения и его хромосомный набор. Также в некоторых случаях целесообразно проведение молекулярно-генетического анализа и получение фотографий ультраструктуры спор для обнаружения гибридов среди рассматриваемых образцов.

ГЛАВА 4. *DRYOPTERIS DILATATA* КОМПЛЕКС В РОССИИ И ЕВРОПЕ

В данной главе обсуждаются наиболее морфологически трудноразличимые и требующие пристального рассмотрения природные образования рассматриваемого рода – представители *Dryopteris dilatata* комплекса.

В России данный комплекс представлен двумя [Малых, 2017] (по некоторым оценкам – тремя [Шмаков, 2009] или даже четырьмя [Конспект флоры ..., 2012]) видами. Н.Н. Цвелев, изложивший свою точку зрения по данному вопросу в 2003 году [Цвелев, 2003], включал в комплекс следующие виды: *D. carthusiana*, *D. expansa*, *D. dilatata* и *D. assimilis*. Первый из них в разное время обозначался различными бинаминалами, однако всегда рассматривался как нечто цельное не требующее деления. Остальные виды, в связи с их крайне схожими морфологическими обликами, то признавались самостоятельными, то наоборот – объединялись и обозначались каким-то одним из указанных бинаминалов.

Анализ морфологического облика представителей обсуждаемого комплекса, а также отдельных признаков показал, что одна из эйдологических единиц, признаваемая многими исследователями, не имеет чёткого морфологического облика или каких-то иных признаков, которые бы позволяли работать с ней объективно.

При анализе морфологических признаков было отмечено частое пересечение *D. expansa*, *D. dilatata* и *D. assimilis* в признаковом пространстве, что позволяет характеризовать их как крайние формы одного вида. В первых двух случаях можно говорить о неясных морфологических системах, которые, однако, имеют географическую определённость: в западной и центральной Европе типичной формой является *D. dilatata*, в восточной Европе, на Урале, в Сибири и Северной Америке – *D. expansa*. Признание хромосомных рас, именуемых как *D. dilatata* и *D. expansa*, за самостоятельные виды обосновано их географической определённостью, однако в случае *D. assimilis* такой определённости не наблюдается. Последний бинаминал

принадлежит к неясной морфологической системе с отсутствующей географической определённой.

Для получения доказательств отсутствия *D. dilatata* на территории России, образцы нескольких Российских и Европейских представителей *Dryopteris dilatata* комплекса были исследованы при помощи проточной цитометрии. Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что тетраплоидный вид *D. dilatata* должен быть исключён из флористических списков субъектов Российской Федерации: все проанализированные образцы, собранные на территории России, показали относительное постоянство размера генома – от 15,77 пг до 23,64 пг, что соответствует диплоидному цитотипу. Образцы, продемонстрировавшие значения в районе – 35,57 пг–37,78 пг и определяемые как *D. dilatata*, были собраны за пределами России (Германия, Франция и т.д.).

Для получения дополнительных доказательств нецелесообразности деления *D. expansa* s.l. на *D. expansa* s.s. и *D. assimilis* были проведены молекулярно-генетические исследования нескольких российских и европейских популяций *D. expansa*. Для достижения данной цели в настоящей работе использовались показатели дифференциации групп (статистика Нея (G_{ST}) и информационно-энтропийная мера Шеннона (I)), а также оценка внутри- и межгрупповой изменчивости по результатам анализа молекулярных вариантов (AMOVA) – дополнительные критерии при работе с выделением или объединением видов.

Значения информационно-энтропийной меры Шеннона, полученные при анализе шести групп представителей рода *Dryopteris* продемонстрировали значения – 0,322 на общую выборку, которая включала растения из таких удалённых регионов как Европа, Урал и Алтай. Значение этого показателя можно считать низким, поскольку, сравнивая его с литературными данными, мы обнаруживаем, что *D. fragrans* демонстрирует несколько более высокий уровень разнообразия – 0,343 при анализе не столь удалённых Канадских и Американских популяций (регион Нунавик и штаты Нью Йорк, Нью Хэмпшир, Вермонт, Мэн). Наибольшее расстояние (по

прямой) между данными популяциями не превышает 2000 км, тогда как расстояние между группами, рассматриваемыми в данной работе, более 6500 км. Аналогичные значения имеет показатель подразделённости групп Нея (F_{ST}). В исследовании *D. fragrans* общее значение этого показателя было на уровне 0,213. Значение данного показателя для *D. expansa* – 0,214 (для всей выборки). Здесь стоит обратить внимание на то, что показатели данных видов сопоставимы, т.е. *D. expansa* (предполагаемая к разделению природная единица) настолько же генетически разнородна, что и *D. fragrans* (неделимая природная единица).

Принимая во внимание то обстоятельство, что споры папоротниковидных могут распространяться на расстояния нескольких сотен и даже тысяч километров, можно сделать предположение, что между удалёнными популяциями может и должен происходить обмен генетической информацией. Данные внутригрупповой, межгрупповой и межрегиональной подразделённости свидетельствуют о том, что такой вариант не исключён, поскольку вклад межрегиональной изменчивости в изменчивость общей выборки крайне низок – всего 8%. Напротив, аналогичные результаты полученные для *D. fragrans* демонстрируют, что межрегиональные различия (Канада и Америка) достигают порядка 70%, межпопуляционные различия – около 18% и, наконец, внутривидовые всего 12%. Как видно, на основании данного показателя именно *D. fragrans*, а не *D. expansa* можно было бы подвергнуть делению на две ясно отграниченные географические расы.

Если учесть, что одним из критериев вида, находящегося в состоянии активного видообразования, является уровень его генетической разнородности, то, проанализировав полученные результаты (F_{ST} и I), можно прийти к выводу, что либо оба вида (*D. expansa* и *D. fragrans*) находятся в состоянии активного видообразования, либо оба вида – это эволюционно стабилизировавшиеся группы со сходным относительно высоким уровнем генетической разнородности. Последняя точка зрения кажется более предпочтительной, поскольку находит подтверждение в рамках классического морфологического анализа.

ГЛАВА 5. КОНСПЕКТ РОДА *DRYOPTERIS* ADANS. В РОССИИ

Номенклатура и морфология

Род *Dryopteris* Adans. 1763, Fam. Pl. 2: 20, 551, nom. cons. Фомин, 1913, Pteridof. Фл. Кавк.: 29; Крыл. 1927, Фл. Зап. Сиб. 1: 20; Фомин, 1930, Фл. Сиб. и Дальн. Вост. 5: 44; Фомин, 1934, Фл. СССР, 1: 30; Heywood, 1964, Fl. Europ. 1: 20; Ohwi, 1965, Fl. Jap.: 63; Бобров, 1974, Фл. Евр. ч. СССР, 1: 80; Данилов, 1988, Фл. Сиб. 1: 60; Цвелев, 1991, Сосуд. Раст. сов. Дальн. Вост. 5: 47; Шмаков, 1999, Опред. папоротн. России: 63; Шмаков, 2009, Опред. папоротн. России, 2-е изд.: 77; Цвелев, 2012, Конс. фл. Вост. Евр., Т. 1: 34. – *Nephrodium* Marthe ex Michx. 1803, Fl. Bor.-Amer. 2: 266. – *Lophodium* Newm. 1851, Phytologist, 4: 371. – *Aspidium* Sw. 1801, Journ. Bot. (Schrader) 1800, 2: 4, 29.

Т у р у s: *D. filix-mas* (L.) Schott.

Корневище короткое, более-менее толстое, горизонтальное, обычно с вертикальной или восходящей верхушкой, окружено спирально расположенными основаниями отмерших вай. Вайи обычно довольно крупные (в среднем до 100 см выс.), дважды- или триждыперистые (иногда почти четыреждыперистые), часто имеют желёзки и/или волосковидные чешуйки. Чешуйки плёнчатые, покрывают черешок, рахис (хотя бы в небольшом количестве) и корневище. Черешок без сочленения. Пластинка вайи травянистая или кожистая. Сегменты 1-го порядка (перья) симметричные в верхней части пластинки вайи, симметричные или асимметричные – в нижней. Конечные сегменты (пёрышки), особенно в своей верхней части, имеют зубцы: от едва различимых и тупых до явных и заостренных. Вершины зубцов никогда не заканчиваются единственным длинным и твёрдым острием (как это бывает у видов рода – *Polystichum* Roth). Сорусы округлые, расположены двумя рядами на конечных сегментах вайи. Индузии более-менее крупные, покрывают сорусы целиком, гладкие или слегка сморщенные, почковидные (с одной из сторон всегда имеется глубокий узкий надрез, который доходит до центральной части – места прикрепления к сорусу), с цельным (в молодом состоянии) краем, не плоские (край слегка

загибается книзу, как бы обхватывая сорус), белые (без хлоропластов). Споры билатеральные.

Всего 225–400 видов, в России – 16 видов.

Ключ для определения видов рода в России

Некоторые эйдологические единицы, обозначенные здесь традиционными видовыми биноминалами, являются гетеродиплоидными или аллотетраплоидными природными образованиями. Данное обстоятельство определяет то, что их морфологические отличия имеют скорее *количественный*, нежели *качественный* характер, а потому при определении конкретного растения следует обращать внимание на ряд *неморфологических* признаков, предлагаемых в данном ключе.

Относительно надёжные признаки, по которым рекомендуется вести определение, выделены полужирным начертанием. Остальные признаки даны для упрощения работы с типичными экземплярами. Если фрагмент ключа не имеет признаков, выделенных полужирным начертанием, значит успешное определение вида потребует знания места сбора и/или проведения цитологического анализа.

1. Нижняя часть пластинки вайи **трижды-четыреждыперистая** 2
- + Нижняя часть пластинки вайи **дваждыперистая** 6
2. **Вайи обычно до 30 см дл.**, широкояйцевидные. Конечные сегменты вай несут зубцы **без длинного мягкого острия** на верхушке. Встречается на Дальнем Востоке (известно только одно местонахождение – Приморский край, окр. сел. Киевка)..... *D. chinensis*
- + **Вайи более 50 см дл.**, от эллиптических до яйцевидных. Конечные сегменты вай несут **крупные зубцы с заметным мягким острием** на верхушке..... 3
3. Чешуйки на черешке редкие, на всём протяжении только **одноцветные**, светло-бурые 4
- + Черешок густо покрыт **двухцветными** чешуйками с тёмно-бурой продольной полосой или с тёмно-бурой точкой в основании..... 5

4. Пластинки вай от эллиптических до яйцевидных. Нижние сегменты 1-го порядка (перья) заметно ассиметричные, их самая широкая часть образована ближайшей к черешку парой сегментов 2-го порядка (пёрышки). Черешок покрыт одноцветными светло-бурыми чешуйками с цельным краем. Встречается повсеместно *D. carthusiana*
- + Пластинки вай широкояйцевидные. Нижние сегменты 1-го порядка (перья) практически симметричные, их самая широкая часть образована удалённой от черешка парой сегментов 2-го порядка (пёрышки). Черешок покрыт одноцветными волосками и светло-бурыми чешуйками, которые часто имеют небольшие зубчики по краю. Встречается на Дальнем Востоке *D. goeringiana*
5. Пластинки вай широкояйцевидные. Встречается повсеместно *D. expansa*
- + Пластинки вай от эллиптических до узкояйцевидных. Встречается только на Кавказе *D. remota*
6. **Вайи до 40–50 см дл.**, густо покрыты короткими железистыми волосками, которые источают **сильный аромат**. Встречается на скалах, каменистых склонах 7
- + **Вайи от 80 см дл.**, иногда покрыты короткими железистыми волосками, которые никогда **не имеют запаха**. Встречаются в основном в хвойных, лиственных и смешанных лесах, зарослях кустарников, на сырых каменистых осыпях (редко), сограх и лесных болотах 9
7. Пластинки вай узкоэллиптические, почти всегда с усечённым основанием отчего кажется, что **их верхняя и нижняя половины явно несимметричны**. Самая широкая часть располагается в основании пластинки или очень близко к нему. Сегменты 1-го порядка (перья) в основном продолговатые, с острой верхушкой. Черешок примерно 1/4 или 1/3 длины пластинки вайи *D. villarii*
- + Пластинки вай от ланцетных до линейно-ланцетных, к основанию постепенно и сильно суженные отчего кажется, что **их верхняя и нижняя половины почти симметричны**. Самая широкая часть располагается в середине пластинки. Сегменты 1-го порядка (перья) от

- ланцетных до треугольных, с притупленной верхушкой. Черешок короткий, примерно 1/6 или 1/8 длины пластинки вайи..... 8
8. Сегменты 2-го порядка (пёрышки) от эллиптических до яйцевидных, **с цельным краем**. Встречается на Дальнем Востоке.....*D. fragrantiformis*
- + Сегменты 2-го порядка (пёрышки) от продолговатых до яйцевидных, **по краям туповато-зубчатые или мелколопастные**. Встречается повсеместно *D. fragrans*
9. **Вайи не образуют розетку**, их конечные сегменты несут зубцы, которые никогда не заканчиваются длинным мягким острием 10
- + **Вайи образуют розетку**, их конечные сегменты могут иметь зубцы, которые заканчиваются длинным мягким острием..... 11
10. **Спороносные вайи значительно длиннее вегетативных**, слабокожистые. Пластинки спороносных вай – ланцетные, стерильных – продолговатые. Базальные сегменты 1-го порядка короткие, яйцевидные. Встречается повсеместно – в сырых и заболоченных лесах, на лесных болотах..... *D. cristata*
- + **Спороносные вайи не отличаются от вегетативных**, травянистые. Пластинки вай от продолговатых и продолговато-яйцевидных до широкоэллиптических и широкояйцевидных. Базальные сегменты 1-го порядка длинные, ланцетные или продолговатые. Встречается на Дальнем Востоке – в хвойных, лиственных и смешанных лесах, у подножья и в трещинах скал..... *D. monticola*
11. Конечные сегменты вай несут зубцы, которые никогда **не переходят в мягкое острие**..... 12
- + Конечные сегменты вай несут зубцы, которые **заканчиваются коротким мягким острием** 15
12. Базальные сегменты 1-го порядка часто асимметричные: базископические сегменты 2-го порядка длиннее акроскопических. У основания и в нижней части черешок покрыт редкими буроватыми чешуями и волосками. Встречается на Кавказе..... *D. caucasica*

- + Базальные сегменты 1-го порядка всегда симметричные: базископические сегменты 2-го порядка примерно равны акроскопическим. У основания и в нижней части черешок покрыт множеством чешуй и волосков..... 13
13. Пластинки вай **травянистые**, от продолговатых до эллиптических. Встречается только на Дальнем Востоке*D. sichotensis*
- + Пластинки вай **кожистые**, глянцевые, от ланцетных до продолговатых 14
14. Нижняя сторона вайи **покрыта большим количеством светлых волосков** как на осях, так и на пластинках сегментов. Чешуйки и волоски на черешке либо прижаты, либо более-менее вверх направлены. Встречается только на Дальнем Востоке*D. crassirhizoma*
- + Нижняя сторона вайи либо **лишена волосков**, либо **несёт их только на осях**. Часто чешуйки и волоски на черешке отходят почти под прямым углом (оттопырены). Встречается на Кавказе..... *D. affinis*
15. Сегменты 1-го порядка плоские. Сегменты 2-го порядка (перышки) с усечённым основанием и закруглённой или слегка заострённой верхушкой, цельные с городчато-зубчатыми краями или с несколькими лопастями (реже – долями), которые несут короткие острые зубцы. Встречается повсеместно*D. filix-mas*
- + Сегменты 1-го порядка часто слегка подогнуты вовнутрь. Сегменты 2-го порядка (перышки) с усечённым основанием и тупой верхушкой, цельные с городчато-зубчатыми краями или с едва выраженными лопастями, которые несут короткие тупые зубцы. Встречается на Кавказе (эндемик Главного Кавказского хребта).*D. oreades*

ВЫВОДЫ

1. Род *Dryopteris* в России представлен 16 эйдологическими единицами, которые имеют объективные отличительные черты и могут рассматриваться в ранге вида: *D. carthusiana* (Vill.) H. P. Fuchs, *D. expansa* (C. Presl) Fras.-Jenk. et

Jermy, *D. remota* (A. Br. ex Döll.) Druce, *D. villarii* (Bellardi) Woyn. ex Schinz & Thell., *D. fragrans* (L.) Schott, *D. cristata* (L.) A. Gray, *D. caucasica* (A. Br.) Fraser-Jenkins et Corley, *D. affinis* (Löwe) Fraser-Jenkins, *D. filix-mas* (L.) Schott, *D. oreades* Fomin, *D. chinensis* (Baker) Koidzumi, *D. goeringiana* (Kuntze) Koidzumi, *D. fragrantiformis* Tzvelev, *D. crassirhizoma* Nakai, *D. monticola* (Makino) C. Christensen, *D. sichotensis* Kom.

2. Поскольку ряд эйдологических единиц (а именно – полиплоиды) входящих в род *Dryopteris*, имеет только количественные, но не качественные морфологические отличия, основой системы рода должны выступать сведения о морфологических признаках видов, а также данные, полученные с использованием методов проточной цитометрии (содержание ДНК, плоидность) и молекулярно-генетического анализа (показатели информационно-энтропийной меры Шеннона и статистики Нея).

3. Следующие морфологические признаки, используемые в ключах для определения, нельзя считать диагностическими: цвет, оттенок и характер поверхности пластинки вайи; отношение длины черешка к длине пластинке вайи; форма, цвет и оттенок чешуй на черешке; наличие, отсутствие или количество железистых волосков; способность вай переживать зимний период. Некоторые из перечисленных признаков имеют значение при определении конкретных видов рода, однако не обладают диагностической силой при работе с родом в целом.

4. Для получения доказательств отсутствия *D. dilatata* на территории России, образцы нескольких Российских и Европейских представителей *Dryopteris dilatata* комплекса были исследованы при помощи проточной цитометрии. Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что тетраплоидный вид *D. dilatata* должен быть исключён из флористических списков субъектов Российской Федерации: все проанализированные образцы, собранные на территории России, показали относительное постоянство размера генома – от 15,77 пг до 23,64 пг, что соответствует диплоидному цитотипу. Образцы, продемонстрировавшие значения в районе – 35,57 пг–

37,78 пг и определяемые как *D. dilatata*, были собраны за пределами России.

5. Данные, полученные в ходе оценки молекулярно-генетической изменчивости *D. expansa*, согласуются с оценкой морфологии вегетативных органов и ультраструктуры спор: деление такого вида как *D. expansa* s.l. на *D. expansa* s.s. и *D. assimilis* нецелесообразно. Аргументами в пользу такого решения выступают следующие показатели: Используемая в настоящем исследовании информационно-энтропийная мера Шеннона (I) демонстрирует значение 0,322 на всю выборку для шести исследованных групп. Поскольку выборка включала растения из таких удалённых регионов как Европа, Урал и Алтай, значение этого показателя можно считать низким: сравнивая значение меры Шеннона с литературными данными, мы обнаруживаем, что *D. fragrans* демонстрирует более высокий уровень разнообразия – 0,343 при анализе не столь удалённых Канадских и Американских популяций (регион Нунавик и штаты Нью Йорк, Нью Хэмпшир, Вермонт, Мэн). Аналогичные значения имеет показатель подразделённости групп Нея (F_{ST}). В исследовании *D. fragrans* общее значение этого показателя было на уровне 0,213. Значение данного показателя для *D. expansa* – 0,214 (для всей выборки). При этом, как и в случае с *D. expansa*, морфологически *D. fragrans* – это неделимая единица.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

Малых С. Ю. Виды, слагающие *Dryopteris dilatata* комплекс, в Пермском крае // Вестник Пермск. ун-та. Сер. Биология. – 2017. – Вып. 4. – С. 380–389.

Малых С. Ю. О роде *Dryopteris* Adans. в Пермском крае // Вестник Пермск. ун-та. Сер. Биология. – 2018. – Вып. 2. – С. 144–149.

Малых С. Ю. Род *Dryopteris* Adans. в Европейской части России // Вестник Пермск. ун-та. Сер. Биология. – 2022. – Вып. 3. – С. 189–200.

Малых С. Ю., Овеснов С. А. Диагностические признаки видов рода *Dryopteris* Adans. // Вестник Пермск. ун-та. Сер. Биология. –2022. – Вып. 3. – С. 201–203.

Малых С.Ю. Генетическое разнообразие российских и европейских представителей *Dryopteris expansa* (С. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy (Dryopteridaceae) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. – 2023. – Вып. 3. – С. 259–273.

Статьи в журналах, входящих в базу данных Scopus:

Melnikov D, Tretyakova A, Grudanov N, Baranova O, Senator S, Muldashev A, Podgaevskaya E, Zolotareva N, Erokhin N, Vorobiev A, Knyazev MS, Glazunov V, Kapitonova O, Allayarova V, Naumenko N,

Efimik E, Malykh S, Merker V, Morozyuk Y, Burundukova D, Shubin D, Shilov D. Pteridophyte distribution of the Urals and adjacent areas: a dataset // Biodiversity Data Journal. – 2021. – №9: e76680 <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e76680>

Статьи в изданиях, входящих в РИНЦ:

Малых С. Ю. Черты романтизма в современной систематике растений // Ботанико-географические исследования. Камелинские чтения. – Пермь, 2019. – С. 104–107.

Малых С. Ю. О возможности и целесообразности создания системы отдельного рода с привлечением большого числа таксономических признаков // Исследования в области ботаники, генетики и микологии: материалы Всерос. науч. конф., посвященной 105-летию кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ и памяти заслуженных профессоров ПГНИУ В. А. Верещагиной и Е. И. Демьяновой / Перм. ун-т. – Пермь, 2022. – С. 24–29.

Статьи в сборниках трудов научных конференций:

Малых С. Ю. Род *Dryopteris* Adans. в заповеднике Басеги // Результаты, перспективы и актуальные проблемы организации научных исследований на ООПТ Урала и Поволжья: материалы межрегион. науч.-практ. конф. – Пермь, 2016. – С. 110–115.