

КРИПТОГИБРИДЫ У РАСТЕНИЙ – ПОДВОДНАЯ ЧАСТЬ АЙСБЕРГА

© 2023 г. В. С. Шнеер^{1,*}, Е. О. Пунина¹, В. В. Домашкина^{1,2}, А. В. Родионов¹

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

ул. Профессора Попова 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

²Биологический ф-т, Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034, Россия

*e-mail: shneyer@rambler.ru

Поступила в редакцию 01.11.2023 г.

После доработки 07.11.2023 г.

Принята к публикации 07.11.2023 г.

Межвидовая гибридизация широко распространена у растений и является важнейшим фактором их эволюции. Долгое время основным критерием гибридного происхождения растения считалась промежуточность заметных морфологических признаков. Однако, по мере внедрения в систематику методов химии и молекулярной биологии и изучения все больших выборок, все чаще выявляются растения химически и генетически гибридные, но внешне неотличимые от предполагаемых родителей, или имеющие необычное сочетание признаков, не позволяющее по морфологии опознать гибридность и родителей. Последующее более пристальное исследование таких выявленных “молекулярных гибридов”, применение морфометрии, часто позволяют найти и морфологические, зачастую количественные или микроскопические, признаки, подтверждающие гибридную природу данных растений. Выявление и изучение криптических гибридов важно для систематики сложных таксономических групп с широкой фенотипической пластичностью, с большим количеством сходных видов, с упрощенной морфологией. Оно помогает лучше понять условия, при которых может происходить гибридизация, и важно в практическом плане, в особенности для борьбы с инвазионными видами, для охраны редких и угрожаемых видов и др.

Ключевые слова: криптогибриды, растения, межвидовая гибридизация, морфологическая промежуточность признаков, “молекулярные гибриды”

DOI: 10.31857/S0006813623120098, EDN: TUOELF

Даже во времена господства биологической теории вида, согласно которой настоящие виды разделены репродуктивным барьером и не должны давать межвидовых гибридов, признавалось, что межвидовая гибридизация у растений весьма распространена. В наше время признано, что и у животных гибридизация не так редка, как считалось ранее, весьма обычна в некоторых группах, и что при дивергенции поток генов между разделяющимися видами может сохраняться в течение нескольких миллионов лет (Mallet, 2005; Levin 2012). С одной стороны, гибридизация является совершенно необходимым элементом видообразования (Rodionov et al., 2019¹), с другой – она может способствовать поглощению редких видов более распространенными. Первую попытку оце-

нить число обнаруженных у растений гибридов сделал W.O. Focke (1881), давший сводку отмеченных ботаниками на то время гибридов, которых было немногим более 4000 (учитывались гибриды не только цветковых, но и голосеменных, и даже водорослей, хотя их было известно немного). Описано ботаниками в ту пору было около 100 тысяч видов – у Bentham and Hooker (1862–1883) – 97205 видов – т.е. описанные гибриды составляли около 4%. Почти через 100 лет I.W. Knobloch (1972) предпринял попытку определить число известных межродовых и межвидовых гибридов покрытосеменных, и у него получилось 23 675 гибридов. Важно отметить, что при подсчете учитывались и естественные (природные) гибриды, и гибриды, полученные экспериментально. К этому времени покрытосеменных уже было описано более 200 тысяч видов, т.е. оцениваемая доля гибридов увеличилась до 10%. Укажем, что эту работу критиковали за включение некоторых неподтвержденных гибридов и отсутствие некоторых известных (Rieseberg, 1997). В 2010 г. была предпринята попытка оценить долю гибридов

¹ [Rodionov et al.] Родионов А.В., Амосова А.В., Беляков Е.А., Журбенко П.М., Михайлова Ю.В., Пунина Е.О., Шнеер В.С., Лоскутов И.Г., Муравенко О.В. 2019. Генетические последствия межвидовой гибридизации, ее роль в видообразовании и фенотипическом разнообразии растений – Генетика. 55(3): 255–272. <https://doi.org/10.1134/S0016675819030159>

среди семейств и родов по 8 опубликованным региональным флорам Сев. Америки, Европы и Австралии (Whitney et al., 2010). Исследованная выборка составляла 37000 видов, 3212 родов, 282 семейства (sensu APG III – Angiosperm Phylogeny Group). Оказалось, что гибриды и виды гибридного происхождения зарегистрированы примерно в 40% семейств (21–39% в разных регионах), в 16% родов (соответственно 5–15%) и доля гибридов относительно видов составляет около 9 процентов. Учитывались данные только по дикорастущим растениям, искусственно полученные гибриды в расчет не принимались.

Наша оценка частоты встречаемости гибридов во флоре цветковых растений Северо-Запада, охватывающей Ленинградскую, Псковскую и Новгородскую области (Tsvelev, 2000²) показала, что на 110 семейств, 609 родов и 1914 видов приходится 223 нотовида и гибрида без таксономического статуса. Эти нотовиды и гибриды, таким образом, составляют около 10% видового состава (при этом мы не учитывали виды и гибриды, существующие только в культуре). Нотовиды и гибриды отмечены в 34 семействах (30.9%) и относятся к 76 родам (12.5%). Таким образом, доля гибридных таксонов в относительно небогатой в видовом отношении флоре региона также весьма значительна и в целом соотносится с таковой в более глобальном масштабе (Punina et al., 2021³).

Общее число описанных видов в мире сейчас приближается к 400000, и невозможно установить точно число опубликованных гибридов, но приблизительная оценка – что не менее 25% всех видов растений гибридизирует с другими видами, той или иной степеню близости с ними (Rieseberg et al., 2006). Изученность в этом отношении разных территорий широко варьирует. Одной из самых изученных является территория Британских островов, где не так давно выпущена книга “Hybrid Flora of the British Isles” (Stace et al., 2015). Это не сводка, а специальная работа, с изучением живых и гербарных материалов, с критической оценкой реальности перечисляемых гибридов. В книге содержатся описания 909 гибридов, как аборигенных так и заносных видов, с указанием для большинства их родителей и способов их установления, частоты нахождения, ареалов (с картами) и экологии мест произрастания, хромосомных чисел и многих других важных деталей. Из 909 гибридов 605 возникли в результате гибридизации аборигенных дикорасту-

щих видов (включая гибриды между подвидами). Аборигенная флора на этой территории представлена 1405 видами и подвидами (Hill et al., 2004), таким образом, число природных гибридов на Британских островах и в Ирландии составляет 43%. Еще раз обратившись к этой теме, двое из авторов монографии подчеркивают, что частота гибридов среди растений дикорастущей флоры в реальности может быть еще больше: “Очевидно, что еще есть много возможностей для улучшения регистрации гибридов традиционными методами. Большинство гибридов, которые можно идентифицировать обычными методами полевого ботаника, не зарегистрированы” (Preston, Pearman, 2015). В статье приведены примеры групп, в которых убедительная идентификация гибридов стала возможной только при применении молекулярных методов – *Brassica*, *Potamogeton*, *Fallopia*, *Mimulus*, *Senecio*, *Sorbus*, *Spartina*, *Typha* и другие.

Гибридизация неравномерно распространена среди растений – из крупных семейств гибриды обнаруживались относительно часто среди членов семейств Asteraceae, Rosaceae, Poaceae, Scrophulariaceae, Salicaceae, Orchidaceae, Violaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Gesneriaceae, Onagraceae, Polygonaceae, Asparagaceae, редко – среди Caryophyllaceae, Solanaceae, Brassicaceae, Apiaceae, Euphorbiaceae. По семейству Суревцевые результаты сильно варьируют в зависимости от региона (Ellstrand et al., 1996, Whitney et al., 2010). Как можно видеть, изучены в какой-то мере по большей части семейства умеренного климата.

Ботаники выявляют гибриды прежде всего по наличию у них промежуточных морфологических признаков родителей, хотя признавалось, что у гибридов могут возникать новые (novel или extreme) признаки. Очевидно, что гибридизация чаще происходит между близкими видами. Но близкие виды часто отличаются лишь немногими морфологическими признаками. Отсюда следует, что вероятность проявления у гибрида именно этих немногих, дифференцирующих родительские виды, признаков весьма низка. Криптические гибриды – это гибридные растения, не демонстрирующие явно промежуточных или сочетанных морфологических признаков обоих своих родителей, а обычно сходные с одним из них (иногда еще и обладающие необычными признаками).

Поскольку долгое время систематика основывалась главным образом на морфологии, трудно сказать, когда ученые впервые задумались о том, всегда ли гибридные растения легко отличить от родителей внешне. Первое встретившееся нам упоминание криптической гибридизации принадлежит австрийскому ученому Эриху Чермаку (Erich Tschermak), ботанику-селекционеру из Вены, одному из трех исследователей, переоткрывших законы Менделя. Чермак упомянул крипти-

² [Tsvelev] Цвелев Н.Н. 2000. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области. – СПб. 781 с.

³ [Punina et al.] Пунина Е.О., Шнеер В.С., Носов Н.Н., Гнутиков А. А., Родионов А.В. 2021. О значении отдаленной гибридизации при изучении биоразнообразия цветковых растений. – Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 20(2): 59–63. <https://doi.org/10.14258/pbssm.2021120>. – EDN: UOIOJLT.

ческую гибридизацию, обсуждая проявления рецессивных и доминантных признаков в опытах по скрещиванию у *Mattiola* (левкоя) и *Hordeum* (ячменя) (Tschermak, 1907). Он сделал это в докладе на III международной конференции по гибридизации и разведению растений, состоявшейся в Лондоне в 1906 г. Это была та самая конференция, на которой было предложено назвать новую науку генетикой и материалы которой вышли под заглавием III конференция по генетике (l.c.).

Несколькими годами позже вышла работа профессора из Гарварда Е.С. Jeffrey (1915), анатома и морфолога, в которой он, обсуждая распространенность “генетически не чистых или гибридных” видов на примере родов Розоцветных, в частности рода *Rosa*, писал, что, кроме обычных гибридов (Jeffrey называл их “открытыми”, open, obvious или phenhybrids), сочетающих признаки родителей, у роз есть криптогибриды (или “скрытые” гибриды, cryptohybrids or hidden), не имеющие сочетания родительских признаков, но обладающие такими признаками гибридов, как недоразвитая пыльца и пониженная плодовитость. Jeffrey (1915) высказал предположение, что, по крайней мере у розоцветных, но, возможно, и у других цветковых, большинство описываемых новых видов представляют собой криптогибриды. По-видимому, эта работа была известна в Америке, так как упоминания криптогибридов встречаются в кратких отчетах американских селекционеров в 1920-х годах. Знал ее и В.Л. Комаров, который в книге “Учение о виде у растений (страница из истории биологии)” (Komarov, 1940⁴), сослался на работу Jeffrey (1915) и писал, что у цветковых есть три типа видов: 1. Чистые виды, равные видам рода сосен *Pinus*. 2. Криптогибриды, скрытые гибриды, считающиеся обычно видами. 3. Признанные гибриды или фенгибриды (l.c. стр. 121).

Надо отметить, что степень проявления сочетания признаков обоих родителей у растений, возникших в результате межвидовой гибридизации, в случаях возвратных скрещиваний быстро меняется. Экспериментально это было показано еще Кельрейтером (Kölreuter, 1766⁵): в его экспериментах гибриды первого поколения F1 проявляли промежуточные морфологические признаки, а беккроссы были с каждым поколением все более сходны с одним из родительских видов.

После этих лет прошло много десятилетий, когда о криптогибридах, казалось, забыли, они почти не упоминались в литературе. Причина этого очевидна: если мы имеем дело с гипотетическим

гибридом, по морфологии не отличающимся от одного из своих предков, единственным аргументом в пользу его гибридной природы может служить пониженная или отсутствующая фертильность. Так или иначе, пыльцевой анализ долгое время был главным методом подтверждения гибридной природы растения в случаях, когда морфология оставляла некоторые сомнения, хотя для такого анализа бывает трудно собрать материал в природе (Peto, 1938).

Постепенно для проверки гибридной природы предполагаемых “бастардов” начали использовать методы хемосистематики, в частности, изучался состав фенолов или флавоноидов, когда пятна на хроматограммах экстрактов гибридного растения показывали аддитивность соответствующих пятен у родительских видов. Как примеры успешных опытов этого направления можно назвать установление гибридов у двух видов *Baptisia* (Alston et al., 1962), у папоротников *Asplenium* (Smith, Levin, 1963), видов *Flox* (Levin, 1967a), *Potamogeton* (Haynes, Williams, 1975) и других. Позднее стали использовать иммуно-ферментный анализ, и тоже иногда обнаруживали у предполагаемых гибридов аддитивность родительских паттернов для некоторых ферментов (Hettiarachchi, Triest, 1991; Hollingworth et al., 1995).

Со временем было признано, что непредсказуемость морфологических признаков ограничивает их использование для идентификации гибридов в отсутствие дополнительных свидетельств (Rieseberg et al., 1993). Использование ДНК-маркеров открыло новый этап в изучении гибридов. Сначала вошли в практику методы фрагментного анализа, основанные на сравнении паттернов длин рестрикционных фрагментов (RFLP) и маркеров, полученных с использованием ПЦП – RAPD, AFLP, ISSR, микросателлиты SSR и др. (Rieseberg et al., 1993; Kutsev, 2009⁶, Khlestkina, 2013⁷). С развитием методов секвенирования геномов верификацию гипотез о гибридном происхождении образцов стали проводить, сравнивая последовательности рРНК- и протеин-кодирующих генов, и межгенных спейсеров (Sang et al., 1995; Ferguson, Sang, 2001; Punina et al., 2012; Belyakov et al., 2022; Gnutikov et al., 2022a,b). Кроме аддитивности маркеров как прямом свидетельстве гибридности, косвенным свидетельством участия гибридизационных процессов в происхождении таксона (или группы таксонов) служит топологическая неконгруэнтность – разное положение таксона на филогенетических деревьях, построенных по ядерным или по пластидным

⁴ [Komarov] Комаров В.Л. 1940. Учение о виде у растений. М.–Л. 212 с.

⁵ [Kölreuter] Кельрейтер И. 1940. Третье приложение предварительного сообщения о некоторых опытах и наблюдениях, относящихся к полу у растений – В кн. Кельрейтер И. Учение о поле и гибридизации растений. М.–Л. С. 155–206. [Перевод с нем.: Kölreuter, 1761–1766]

⁶ [Kutsev] Куцев М.Г. 2009. Фрагментный анализ ДНК растений: RAPD, DAF, ISSR – Барнаул. 163 с.

⁷ [Khlestkina] Хлесткина Е.К. 2013. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. – Вавилонский журнал генетики и селекции. 17 (4): 1044–1054.

маркерам (Soltis, Kuzoff, 1995; Kellogg et al., 1996; Sang, Zhong, 2000).

Криптические гибриды обнаруживаются редко. В полевых условиях выделить растения-предположительные криптические гибриды среди других, похожих, растений родительских видов могут только “опытные ботаники или специалисты по данным таксонам” (Preston, Pearman, 2015). Приведем пример: в родах орхидных *Dactylorhiza* и *Gymnadenia* межвидовая гибридизация широко распространена, описано много гибридов, объем и границы многих видов трактуются разными авторами по-разному. Ботаникам, нашедшим одно необычное растение на юге Британии, на обочине дороги, неподалеку от росших там видов *Dactylorhiza praetermissa* (Druce) Soó и *Gymnadenia borealis* (Druce) R.M. Bateman, Pridgeon et M.W. Chase, показалось, что формой околоцветника, по размеру и окраске цветков, оно сходно с *D. praetermissa*, а длинным и толстым шпорцем и ароматом – с *G. borealis* (Bateman et al., 2017). Результаты морфометрического анализа, произведенного по 42 признакам, диагностировали растение как *G. borealis*, возможно, как уклоняющуюся форму этого вида. Однако ДНК-секвенирование маркеров ядерного (ITS) и хлоропластного (*trnL-F*) геномов показало, что это гибрид F1, родителями которого с материнской стороны была *D. praetermissa*, а пыльца происходила от *G. borealis*. Таким образом растение оказалось криптическим гибридом, который был описан как \times *Dactyloдения lacerta* (Bateman et al., 2017).

Известно, что гибриды весьма редки у зонтичных (Ellstrand et al., 1996), хотя при исследовании многих родов отмечена хлоропластно-ядерная неконгруэнтность, свидетельствующая о возможной гибридизации в прошлом. Но некоторые гибриды все же были обнаружены, причем даже межродовые (Stace, 2010). В двух местонахождениях в Британии еще в 1980 г. были обнаружены растения, похожие то ли на *Helosciadium nodiflorum* (L.) W.D.J.Koch, то ли на *Berula erecta* (Huds.) Coville. Гибридную природу растений заподозрили на основании их стерильности и невыполненной пыльцы. Только занявшие много лет определения и уточнения хромосомных чисел, использование ядерных и хлоропластных маркеров и GISH-гибридизация (Stace, 1984; Desjardins et al., 2015) позволили прийти к выводу, что загадочные растения – действительно межродовой гибрид *Helosciadium* \times *Berula* (Desjardins et al., 2015).

К феномену криптических гибридов можно отнести и такие случаи, когда у растения выявляются необычные количественные морфологические признаки, выходящие за пределы значений, свойственных другим близким видам, произрастающим на примерно тех же территориях. Примером может послужить гибрид из рода *Iris* сек-

ции *Lophiris*, недавно обнаруженный китайскими исследователями и подтвержденный молекулярным анализом (Xiao et al., 2021). Растения отличались от 5 других видов той же секции большими размерами листьев и цветков. На гибридное происхождение указывала стерильная пыльца, но отчетливых морфологических признаков, которые бы указывали на вероятные родительские виды, найдено не было. Сравнение последовательностей двух хлоропластных генов, *matK* и *ndhF*, показало, что растения могут быть гибридами видов *I. japonica* Thunb. и *I. wattii* Baker. Морфометрические данные не противоречили этому выводу. По результатам работы был описан нотовид *Iris* \times *ampliflora* (Xiao et al., 2021).

Иногда криптические гибриды выявляются случайно, но чаще этому способствует массовый анализ образцов, который стал чаще применяться в последние годы, особенно при использовании молекулярных методов.

Однолетнее бобовое *Amphicarpeae bracteata* (L.) Fernald – морфологически полиморфный вид, в котором некоторые систематики на основании морфологического анализа выделяли два морфотипа *A. bracteata* var. *bracteata* и *A. bracteata* var. *comosa* (Gleason, Cronquist, 1963). Изозимный анализ (Parker, 1996) и сравнение двух ядерных и одного хлоропластного маркера (Parker et al., 2004) показали, что образцы *A. bracteata* относятся к трем линиям – сестринским Ia и Ib и линии II, причем линии Ib и II соответствовали вариации *A. bracteata* var. *comosa*. Используя технологию высокопродуктивного секвенирования с низкой представительностью Genotyping-by-sequencing (GBS) Kartzinel et al. (2016) сравнили однонуклеотидные замены (SNPs – single nucleotide polymorphisms) в 8 RAD-локусах (restriction-associated DNA loci) у 128 образцов этого вида и показали, что они относятся к трем высокоинбредным генетическим линиям. При этом в двух работах были найдены гибридные растения, в первой гибридным (межлинейным гибридом) было одно из 1000 образцов (Parker, 1996), во второй – два из 130 (Kartzinel et al., 2016).

Криптический гибрид был найден (Surveswaran et al., 2018) при анализе видов азиатско-американского рода *Spiranthes* (Orchidaceae), в котором виды разделяются по признакам цветка, а цветки очень мелкие, таксономия сложная. Вид *S. sinensis* (Pers.) Ames с самым широким ареалом был представлен 25 образцами из разных мест ареала. Молекулярный анализ показал, что образец из Малайзии, морфологически не отличающийся от других образцов *S. sinensis*, занял разное положение на дереве, построенном по ITS (где он был среди других образцов *S. sinensis*) и на дереве по комбинированным данным, где преобладают хлоропластные участки, здесь он вошел в субкла-

ду с другим, недавно описанным этими же авторами, видом *S. himalayensis* Survesw., Kumar et Mei Sun. Авторы считают, что малазийский образец *S. sinensis* является криптическим гибридом.

Два вида хвойных *Abies veitchii* и *A. homolepis* (Pinaceae) произрастают в Японии, и в природе гибридов никогда не было найдено. Анализ митохондриальных, хлоропластных и ядерных (ITS) ДНК-маркеров 474 растений обоих видов из двух смешанных популяций показал, что два растения, обладая хлоропластными и митохондриальными гаплотипами обоих видов, являются гибридами (Isoda et al., 2000). Последующий внимательный морфологический анализ позволил найти у гибридных растений промежуточные признаки.

Вид сосен *Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw. с 3-4 хвоинками в пучке считался гибридом между *P. juarezensis* Lanner с 5 хвоинками и *P. monophylla* Torr. et Frém. (или выделенного из него вида *P. californiarum* D.K. Bailey с одной хвоинкой. Исследование однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в низкокопийных районах геномов (DArTseq-технология) показало отсутствие различий между экземплярами *P. quadrifolia* и *P. juarezensis*, которые таким образом являются конспецифичными (Buck et al., 2020). Анализ низкокопийных ядерных генов у единичных образцов видов этой группы не выявил гибридов *P. quadrifolia* × *P. californiarum* (Montes et al., 2019), но увеличение выборок видов до нескольких десятков и анализ SNPs ядерной ДНК вдоль всего генома позволил обнаружить незначительное количество межвидовых гибридов *P. quadrifolia* × *P. californiarum* и *P. quadrifolia* × *P. monophylla*, как морфологические промежуточных, так и сходных с одним из родителей (Buck et al., 2020). Было высказано предположение, что морфологическая промежуточность признаков у гибридов наблюдается в случаях, когда у них генетический вклад обоих родителей примерно равен, а когда один из них преобладает в результате интрогрессий (т.е. у беккроссов), эта интрогрессия может быть морфологически криптической (Buck et al., 2020).

Исследование 147 растений двух австралийских видов рода *Lomatia* (Proteaceae) – *L. myrioides* (C.F. Gaertn.) Domin и *L. silaifolia* (Sm.) R.Br. из трех смешанных популяций показало, что в некоторых популяциях криптические гибриды преобладают (McIntosh et al., 2014). Однако доля растений промежуточной морфологии сильно варьирует в смешанных популяциях. Три смешанных популяции были исследованы морфометрически и проведен анализ микросателлитов (по 12 локусам). В той популяции, где микросателлиты выявили больше всего гибридных растений, морфометрический анализ показал, что большинство растений выглядит как принадлежащие или к одному, или к другому виду. То есть это криптогибриды, и авто-

ры полагают, что это по большей части не гибриды F1, а беккроссы, и против гибридов, особенно с промежуточной морфологией, идет сильный отбор, и быстро происходят беккроссы.

Однако работ, где бы просто исследовалось большое количество образцов для поиска криптических гибридов, сравнительно немного. Больше их там, где такой поиск дает не только научный, но и практический результат. В случае криптогибридов их выявление имеет большое значение для изучения таксономически сложных групп, мониторинга инвазионных видов, а также для охраны редких видов (для предотвращения интрогрессии с численно преобладающими видами). Выявление криптических гибридов важно для ботанических садов как источников семян для обмена – там оказываются произрастающими вместе растения, никогда не росшие близко друг к другу, и вопрос об их возможной гибридизации (и распространении криптических гибридов под названиями родительских видов) стоит весьма остро (Smirnov et al., 2017).

Криптогибриды в таксономически сложных родах

В случае несходных видов свидетельства морфологической промежуточности и стерильности могут быть убедительными доказательствами гибридной природы растения. Но если один или оба из возможных родительских видов сходны между собой (иногда и с другими видами), отличаются единичными признаками, да еще эти признаки вариабельны, надежно установить морфологическую промежуточность бывает очень трудно, и морфология, даже вкуче со стерильностью, не может служить надежным указателем на гибридность.

У видов очень крупного (около 800 видов) и экономически важного рода *Ficus* (Moraceae), где превалируют однодомность или функциональная двудомность, часто видоспецифичная приуроченность ос-опылителей и существуют другие факторы репродуктивной изоляции, естественная гибридизация почти не была зарегистрирована и считалась скорее исключением, чем правилом (Ramirez, 1974). Кроме того считалось, что общее морфологическое сходство видов *Ficus* приводит к тому, что гибриды могут оставаться незамеченными (Janzen, 1979). Была высказана гипотеза что репродуктивная изоляция какого-либо вида *Ficus* может быть нарушена при недостаточной численности вида-опылителя, специфичного для данного вида, и такая ситуация более вероятна на островах. Было проведено исследование на островах Индонезии, где симпатрически обитали три близких вида – *Ficus septica* Burm.f., *F. fistulosa* Reinw. ex Bl., и *F. hispida* L. f. (Parrish et al., 2003). На пяти островах было собрано 22 растения с несколькими необычными для трех видов признаками. Из этих растений, судя по паттернам AFLP и по гаплотипам хлоропластной ДНК, 8 оказались

гибридами. Авторы предположили, что растения, гибридность которых не подтвердилась, в данном случае могли быть не F1, а беккроссами-интрогрессантами. На маленьком острове Окиносима (0.97 км²), в Японии, в соседстве с 2 экземплярами *F. thunbergii* Maxim., было найдено 42 растения, морфологически определяемых как *F. pumila* L. AFLP-анализ показал, что 11 из них (29%) в действительности были гибридами-интрогрессантами (Tsai et al., 2015), их уже явно можно назвать криптическими гибридами. Изучение таких гибридов у *Ficus* дает много ценных сведений о коэволюции растений и опылителей.

Очень сложная ситуация с выявлением гибридов в тех родах, где гибридизация широко распространена, виды отличаются широкой фенотипической пластичностью, и нередко параллельная эволюция признаков.

Род *Stipa* – крупный (150 видов) и таксономически сложный род злаков (Poaceae). Было исследовано распределение множества маркеров SNP, созданных на платформе DArTseq, у 302 гербарных образцов пяти вариабельных и широко-ареальных видов *Stipa* из разных местонахождений России и Казахстана (Baiakhmetov et al., 2021). Оказалось, что 250 образцов представляют “чистые виды”, а 52 образца – гибриды этих видов, в разных комбинациях и с разной частотой. Проведенный морфологический анализ показал, что только 5 из этих 52 образцов могли быть определены как гибриды на основе одной морфологии, то есть большинство оказалось криптогибридами разных поколений, в частности, из 15 предполагаемых гибридов F1 *S. baicalensis* × *S. krylovii*, с большой долей вероятности 6 оказались гибридами F2 (F1 × F1), одно растение возникло в результате возвратной гибридизации (F1 × *S. baicalensis*) и 5 гибридов были поздними интрогрессантами. Из 14 предполагаемых на основе морфологии гибридов F1 от скрещивания *S. capillata* × *S. krylovii*, только 6 определено были F1, один образец оказался гибридом F2 и 7 образцов демонстрировали композитный геном, примерно соответствующий по конституции F1/F2 стадиям гибридизации. И, наконец, 13 из 14 предполагаемых гибридов первого поколения между видами *S. capillata* × *S. baicalensis* такими и оказались, одно растение демонстрировало геномный состав, средний между F1 и F2 (Baiakhmetov et al., 2021).

Особенно сложно определять гибридное или “чистокровное” происхождение объекта исследования в таксонах с упрощенной морфологией, что свойственно, в частности, многим водным растениям (*Myriophyllum*, *Batrachium*, *Potamogeton* и др.), и детальное изучение этих групп в последние годы (особенно рода *Potamogeton*) значительно расширило представления о распространении явления межвидовой гибридизации в этих родах.

В роде *Potamogeton* (Potamogetonaceae) гибриды описывались систематиками с конца XVIII века, хотя, как отмечалось, убедительных доказательств гибридной природы для большинства не было получено (Les, Philbrick 1993). Тем не менее, к концу XX века было описано уже около 50 предполагаемых межвидовых гибридов (Wiegleb, Kaplan, 1998; Kaplan, Fehrer, 2006). К настоящему времени в этом роде, насчитывающем 72 вида, описано не менее 100 гибридов (Kaplan et al., 2018), причем их наличие и встречаемость неравномерны в разных регионах мира (Kaplan et al., 2009). Виды рдестов характеризуются высокой морфологической пластичностью и частой анеуплоидией, поэтому убедительно обосновать гибридное происхождение растения часто затруднительно даже у широколистных видов (секция *Potamogeton*), достаточно различных морфологически, чтобы можно было выявить растения с сочетанием таксономически значимых видоспецифичных признаков. Что касается очень сходных между собой узколистных видов (секция *Graminifolia*), у них гибриды стали находить и подтверждать только с помощью новых методов, например, применение двумерной хроматографии фенольных экстрактов доказало гибридное происхождение узколистного *Potamogeton longiligulatus* Fernald (Haynes, Williams, 1975). В случаях, когда растения с промежуточной морфологией были стерильными или почти стерильными, им присваивали видовой статус (нотовидов) (например: Hellquist, Crow, 1986). Позднее доказывать гибридную природу предполагаемых гибридов стали, используя иммуно-ферментный анализ (Hettiarachchi, Triest, 1991; Hollingworth et al., 1995). Применение молекулярных методов показало, что родителями некоторых общепризнанных гибридов *Potamogeton* являются не те виды, которые ранее ими считались (по-видимому, на основе морфологических аргументов), а совсем другие, при этом иногда гибриды не растут рядом с возможными родителями (Kaplan, Fehrer, 2011; Zalewska-Gałosz et al., 2018).

Восток Северной Америки – регион наибольшего видового разнообразия рдестов. При сборе образцов были найдены растения, несколько отличающиеся от типичных образцов всех видов, таксономически неясные морфотипы. Использование молекулярных маркеров (ITS) позволило выявить и описать четыре новых гибрида, три из которых внешним обликом походили на одного из родителей (Kaplan et al., 2009). Аддитивность последовательностей ITS и *rbcL* позволила доказать присутствие в Китае пяти вариантов межвидовых гибридов *Potamogeton*, причем одна комбинация *P. distinctus* × *P. gramineus* для этого рода бы-

ла описана впервые. Авторы отмечают, что гибрид *P. distinctus* × *P. nodosus* морфологически не отличался от одного из родительских видов (Du et al., 2010).

В работе, посвященной исследованию эндемика Флориды, редкого и охраняемого вида *Potamogeton floridanus* Small, который авторы называют “таинственным” (Kaplan et al., 2018), они описывают его таксономическую историю, начавшуюся в 1886 г. Его считали и самостоятельным видом, и незрелой формой другого вида, *P. natans* L., отождествляли с азиатским или австралийским видами. Неоднократно предлагались гипотезы, что это гибрид, и в качестве родительских предполагали 4 вида, произрастающих в той же местности, но морфология и анатомия давали неубедительные свидетельства родства, и вид считали “таксономически неясным”. Анализ последовательностей ITS и хлоропластного межгенного спейсера *trnT–trnL* показал, что этот таксон – гибрид *P. pulcher* Tuckerm. и *P. oakesianus* W. Robbins, причем второй вид не встречается близко от ареала *P. floridanus* (Kaplan et al., 2018).

NGS-секвенирование многократно повторенных генов оказалось эффективным инструментом для исследования происхождения гибридных таксонов, в том числе криптических гибридов. Этот подход был использован при исследовании водных макрофитов Евразии из рода *Sparganium* (Typhaceae) (Belyakov et al., 2022). Виды рода отличаются высокой фенотипической пластичностью и, как полагали, способны образовывать межвидовые гибриды, однако насколько распространена межвидовая гибридизация в роде, было не ясно. Авторы изучили разнообразие рДНК 15 таксонов *Sparganium*, включая как морфологически хорошо идентифицированные виды и подвиды, так и растения, демонстрирующие промежуточную морфологию между двумя видами (т.е. вероятные гибриды). Авторы показали, что состав риботипов в геноме морфологически промежуточных форм во всех случаях подтвердил их гибридное происхождение и позволил определить наиболее вероятных предков гибридов. Было показано также, что даже хорошо идентифицируемые “морфологические” виды могут иметь в своих геномах признаки гибридного происхождения. Было показано, что в морфологически полиморфном виде *S. emersum* Rehmann европейские образцы с одной стороны, и прибайкальские, китайские и дальневосточные образцы с другой, имеют разный набор риботипов, разное происхождение. Следовательно, предложенное Н.Н. Цвелевым выделение последних в особый вид *S. rothertii* имеет все основания (Belyakov et al., 2022). Растения, по таксономически значимым признакам определяемые как *S. probatovae*, собранные в разных частях ареала этого вида, как оказалось, имеют разные субгеномы, разное про-

исхождение и, с филогенетической точки зрения, не могут относиться к одному виду. Каждый из них прошел через несколько раундов разнонаправленных межвидовых гибридизаций и их морфологическое сходство “*S. probatovae*” случайно (Belyakov et al., 2022).

Еще одна таксономически сложная группа водных видов и гибридов, трудных для определения – секция *Batrachium* рода *Ranunculus*, в ней для точного установления гибридной природы некоторых образцов и их возможных родителей оказалось возможно использование цитогенетических (Prančl et al., 2018) и молекулярных (Butkuvienė et al., 2020) методов. В другом водном роде, *Callitriche* (Plantaginaceae), включающем около 60 видов, до внедрения молекулярных методов был найден и описан лишь один гибрид, триплоидный *C. × vigens* (*C. cophocarpa* Sendtn × *C. platycarpa* Kütz) (Martinsson, 1991). Но при массовом анализе образцов и применении молекулярных маркеров и цитогенетических методов были найдены новые гибриды (Prančl et al., 2014; 2020). Род *Ruppia* (Ruppiaceae) – небольшой, около 10 видов, но и в нем таксономия осложнена отсутствием ясных дифференцирующих признаков. В результате исследования разнообразия видоспецифичных микросателлитов хлоропластных маркеров в геномах растений видов *R. maritima* L. и *R. spiralis* (Petagna) Grande из 20 симпатрических популяций (по 30 растений в выборке) в нескольких популяциях были найдены беккроссы и гибриды поздних поколений, морфологически сходные с родительскими видами, хотя гибридов недавнего происхождения не было обнаружено (Beirinckx et al., 2020).

Еще 25 лет назад постулировалось, что в водной (морской) среде случаи гибридизации в группе растений и водорослей зарегистрированы значительно реже (6 против 94%), чем среди животных (Gardner, 1997, цит. по Borkin, Litvinchuk, 2013⁸). Но это было незадолго до того, как стали широко использовать молекулярные методы идентификации гибридов. Возможно, у водных видов криптогибриды преобладают, и по мере их выявления это соотношение изменится.

Криптогибриды между редким и обычным видами

Бывают случаи, когда среди образцов редкого вида растений встречаются такие экземпляры, которые имеют признаки интрогрессии. Чаще всего это обнаруживается в смешанных популяциях или даже на границе ареалов. Выявление та-

⁸ [Borkin, Litvinchuk] Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н. 2013. Гибридизация, видообразование и систематика животных. – Труды Зоологического института РАН. Приложение 2: 83–139.

ких случаев имеет большое значение при охране редких видов, а также должно учитываться при поддержании коллекций в ботанических садах и при сборе семян для делектуса, поскольку неконтролируемая интрогрессивная гибридизация между редким и более распространенным видами может вести к фактическому замещению популяции редкого вида или загрязнению живой коллекции ботанического сада посредством генетической ассимиляции или замены генофонда редкого вида генофондом обычных видов.

В качестве примера приведем результаты исследования сосен в Пиренеях – массового и широко распространенного в Европе *Pinus sylvestris* L. и более редкого в тех местах *P. uncinata* Ramond. Эти виды иногда образуют гибриды, в морфологии которых сочетаются признаки родительских видов. В работе Jasińska et al. (2010) было проведено сравнительное исследование 17 морфологических и анатомических признаков и паттернов PCR-RFLP-маркеров района *trnL–trnF* генома хлоропластов у 240 растений из 8 изолированных и смешанных популяций (в выборке было по 30 экземпляров растений из каждой популяции), при этом явно гибридные растения с промежуточной морфологией в анализ не брали. Анализ ДНК показал, что все растения из изолированных популяций и большинство из смешанных обладали гаплотипом одного или другого “морфологического” вида. Но в одной, самой южной, смешанной популяции сосен в Сьерра-де-Гудар четыре растения с морфологией *P. sylvestris* обладали, между тем, хлоропластным геномом *P. uncinata*, и, авторы полагают, что они представляют собой криптические гибриды (Jasińska et al., 2010).

На севере Евразии и Сев. Америки и в Гренландии встречаются два вида рода *Pyrola* (Ericaceae) – часто встречающийся *P. grandiflora* Radius и редкий *P. minor* L. С целью проверить вероятность замещения редкого вида обычным были подобраны видоспецифичные SNPs в ISSR-локусах ядерной и полиморфные сайты в 6 локусах хлоропластной ДНК, и протестированы растения из 10 популяций (по 20 растений) из разных мест ареала (Beatty et al., 2009). При этом в Гренландских популяциях были визуальными гибридными растения, а в канадских их не было. Анализ ядерных SNPs подтвердил предположение, что все растения с “промежуточной” морфологией были гибридами. Но, кроме того, некоторые из растений, морфологически выглядящие как типичные *P. minor*, из гренландских популяций, и все исследованные *P. minor* из Канады, показали следы интрогрессии в их геном аллелей, типичных для вида *P. grandiflora*. Анализ SNPs хлоропластов показал, что эта гибридизация была односторонней, и что гибриды возникали в результате опыления *P. minor* пыльцой более распространенного вида

P. grandiflora (Beatty et al., 2009). Таким образом, не только подтвердилась гибридная природа “морфологически” гибридных растений, но и показано, что все морфологически “чистые” *P. minor* исследованных популяций Канады несут следы интрогрессии – они криптические гибриды.

При исследовании внутри-индивидуального полиморфизма ядерных ITS у растений другой пары видов, из рода *Pulmonaria* (Boraginaceae), из которых один – обычный *P. obscura* Dumort., а другой – редкий *P. angustifolia* L., из смешанных популяций с территориями Эстонии, Латвии и Польши, оказалось, что гибридными являются не только сравнительно немногочисленные экземпляры с промежуточной морфологией, но и все растения, которые при сборе отнесли к *P. angustifolia* (Kook et al., 2015). Анализ SNPs у более тысячи образцов из 27 симпатрических популяций многочисленного вида *Saxifraga spathularis* Brot., редкого *S. hirsuta* L. и их гибрида *S. × polita* в Ирландии показал, что большинство растений, морфологически выглядящих как *S. hirsuta*, являются криптическими гибридами (Beatty et al., 2015). При этом интрогрессия у этого вида является преимущественно односторонней, и процесс зависит от плотности каждого вида в популяциях. Примеры криптических гибридов, когда редкий вид, сосуществующий с видами распространенными, оказывался генетическим интрогрессантом, были найдены в родах *Primula* (Ma et al., 2019), *Protea* (Mitchell, Holsinger, 2018) и других.

Приведенные примеры убедительно, как кажется, показывают, что процессы гибридизации и интрогрессии представляют опасность для редких видов, они могут быть замещены гибридными роями (Levin et al., 1996). В качестве мероприятий по охране редких видов все чаще предпринимается транслокация – перенос растений на новое подходящее место, менее затронутое антропогенными воздействиями. Перед этим необходимо убедиться, что переносимым видам не угрожает гибридизация с аборигенными близкими видами, в результате чего редкий вид может исчезнуть. Для этого нужно удостовериться в отсутствии криптической гибридизации.

Криптические гибриды у инвазионных растений

Значительная часть сообщений о нахождении криптических гибридов появилась в результате изучения инвазионных видов. Нередко инвазионные виды гибридизируют с близкими аборигенными, а при инвазии двух видов, не гибридизирующих на родине (иногда ввиду неперекрывающихся ареалов), случается, что в новых условиях они начинают гибридизировать.

Среди инвазионных растений Америки одно из самых агрессивных – *Tamarix* (Tamaricaceae). Род Старого Света, но несколько видов с XIX века завозились в США для закрепления песков и в декоративных целях (Bean, Dudley, 2018). Растениям этого рода присущи и перекрестное, и самоопыление, пыльцу разносит ветер и многие виды насекомых, семена мелкие и их множество, может размножаться вегетативно. Попав в подходящий климат и на подходящие почвы, тамариск начал активно размножаться и занимать большие территории. Насекомых-врагов там не оказалось, и распространение тамариска стало приводить к экологическим бедствиям библейского масштаба – обмелению рек, пожарам, засолению, исчезновению аборигенных видов растений и животных. Изучение показало, что в США имеется несколько инвазионных видов тамариска, при этом некоторые морфологически столь сходны, что не все систематики признают их самостоятельность. Некоторые виды слабо различаются и генетически – пришлось подбирать вариабельные участки генома, чтобы выявить различия. Интенсивное изучение гибридизации было вызвано практической необходимостью. Было замечено, что поедающий листья тамариска средиземноморский жук-листоед, которого завезли и использовали как средство биоконтроля, хорошо справляется не со всеми видами тамариска (DeLoach et al., 2003).

Исследование низкокопийного интрона гена фосфоенолпируват карбоксилазы у 269 растений из двух наиболее агрессивных и морфологически сходных инвазионных видов *T. ramosissima* Ledeb. и *T. chinensis* Lour. из разных районов Евразии и Сев. Америки выявило 58 гаплотипов, из которых лишь 4 общих для Евразии и Америки, а преобладающим генотипом в Америке оказался гибридный, морфологически криптический, нашлись и криптические гибриды иного происхождения (Gaskin, Schaal, 2002). Гибриды видов *T. ramosissima* и *T. chinensis*, морфологически неотличимые от родителей, были обнаружены в большом количестве (до 45%) и в Южной Африке (Mayonde et al., 2016), тогда как в местах их происхождения, в Азии, их гибриды были неизвестны (Gaskin, Schaal, 2003).

Криптическая гибридизация между видами, не гибридизирующими на родине, была найдена и у евразийских льнянок. Два вида – *Linaria vulgaris* Mill. и *L. dalmatica* (L.) Mill. (Plantaginaceae) имеют на родине разобщенные ареалы и не гибридизируют, а в Америке стали гибридизировать. Анализ сайтов рестрикции у 74 растений из 17 популяций из 8 штатов, большинство из Колорадо и Монтаны, где распространены оба вида и гибриды, показал, что наряду с гибридными растениями, демонстрирующими морфологическую промежуточность, в некоторых популяциях встречаются криптогибриды, морфологически неотличимые от *Linaria dalmatica* (Boswell et al., 2016).

Два вида рода *Wisteria* (Fabaceae) – *W. sinensis* (Sims) Sweet из Китая и *W. floribunda* (Willd.) DC из Японии были интродуцированы в США в начале XIX века, натурализовались в юго-восточной части страны и числятся инвазионными в 15 штатах. На родине ареалы этих видов не перекрываются, виды не гибридизируют, дифференцирующие признаки (главные – опущение плодов и направление закручивания лозы) удобны в работе, и диагностика видов не вызывает труда. Однако в Америке, где виды часто растут вместе, картина другая, плоды почти у всех растений опущенные, и лоза обоих видов может закручиваться как по часовой стрелке, так и против. Анализ ядерных ISSR маркеров и хлоропластных маркеров – гена *trnL* и межгенного спейсера *trnL–trnF* – показал, что в 24 из 25 исследованных смешанных популяций присутствуют преимущественно гибридные растения, т.е. почти все натурализовавшиеся растения – интрогрессивные гибриды (Trusty et al., 2007).

Сибирский ильм *Ulmus pumila* L., был завезен в США в начале XIX века, использовался там для селекционной работы, стал инвазионным видом и распространился на территориях 41 штата. Проведенное исследование множества экземпляров, морфологически соответствовавших “чистому” виду *U. pumila* из популяций разного возраста, показало, что, судя по результатам молекулярного анализа 13 микросателлитных локусов, популяции *U. pumila* включали от 4 до 53% гибридов этого вида с аборигенным видом *U. rubra* Muhl. (Zalapa et al., 2010).

В Калифорнии (США) был распространен аборигенный вид злаков *Spartina foliosa* Trin., а в 1970-х годах туда был интродуцирован другой американский вид, *S. alterniflora* Loes., быстро ставший преобладающим в этом регионе благодаря целому ряду признаков, в том числе более высокому репродукционному потенциалу. При этом гибрид обоих видов *S. foliosa* × *S. alterniflora* долгое время не был распознан из-за перекрывания морфологических признаков, хотя, как показали более поздние генетические исследования, именно гибриды проявили высокую инвазионность в данном регионе (Ayres et al., 1999; 2008).

Среди инвазионных растений немало водных и прибрежных. Активным инвазионным гибридом является *Typha* × *glauca* (*T. latifolia* × *T. angustifolia* L.), имеющий морфологически промежуточные признаки, но весьма вариабельный. Чтобы надежно отличать его от родительских видов (особенно от инвазионного *T. angustifolia*) привлекали до 15 качественных признаков (Kuehn, White, 1999). По результатам морфологического анализа гибридные растения выглядели как гибридный рой из гибридов разных поколений, но использование молекулярного RAPD анализа показало, что в основном это F1 гибриды, отличаю-

щиеся по взятым молекулярным маркерам от “чистого” *T. angustifolia* (Kuehn et al., 2000).

Евразийско-североафриканский вид *Myriophyllum spicatum* L. (Haloragaceae), заселившись на северо-американский континент, как считают, с 1940-х годов, начал гибридизировать с местным видом *M. sibiricum* Kom., гибрид стал активно распространяться, но так как он был морфологически сходен с родительским видом *M. spicatum*, да и все три таксона весьма похожи, далеко не сразу обратили внимание на существование гибрида (Moody, Les, 2002) и установили его инвазионное превосходство (Glisson, Larkin, 2021). Генетические методы обеспечивают более надежное опознавание гибридов *Myriophyllum* (Moody, Les, 2007 – ITS район; LaRue et al., 2013 – AFLP; Taylor et al., 2017 – микросателлитные маркеры).

Приведенные выше примеры показывают, что современные методы молекулярно-генетического анализа обеспечивают своевременное распознавание и эффективную диагностику криптических гибридов у инвазионных видов, что несомненно имеет очень большое природоохранное и хозяйственное значение.

Криптические гибриды – аллополиплоиды

Обнаружение криптогибридов происходит и при исследованиях аллополиплоидов, которые по определению являются гибридами, и до последнего времени свидетельством их происхождения считалось некоторое морфологическое несходство с соответствующим диплоидом (напротив – для автополиплоидов – сходство). Однако, когда стали применять молекулярные подходы, оказалось, что морфология – не всегда надежный свидетель. Некоторые виды, считавшиеся автополиплоидами, оказались аллополиплоидами и наоборот, т.е. и тут присутствует криптическая гибридизация, без морфологических свидетельств.

Аллополиплоидное (гибридное) происхождение тетраплоида, морфологически неотличимого от одного из диплоидных родителей и считавшегося его автополиплоидом, было найдено у *Mimulus guttatus* Fisch. ex DC (Phrymaceae) (Sweigart et al., 2008). Другим примером может служить всем известный вид крестоцветных *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. Это космополитный, морфологически полиморфный и фенотипически пластичный вид с запутанной таксономией (полагали, что это один вид с двумя уровнями пloidности или 3–4 разных вида) и самоопылением, т.е. объект, доказать участие которого в событиях межвидовой гибридизации экспериментально затруднительно. Только анализ полных геномов выявил недавнее аллополиплоидное, т.е. гибридное, происхождение тетраплоидного генома (Douglas et al., 2015).

Наиболее ярким случаем выявления криптического гибрида, поменявшим представления об отношениях трех цитотипов, стал злак *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv., который долго считался единственным однолетним видом в роде и классическим примером автополиплоидной серии в пределах одного вида с тремя цитотипами ($2n = 10, 20, 30$). Эти цитотипы встречаются как в смешанных популяциях, так и по отдельности. Из-за маленького генома и короткого жизненного цикла *B. distachyon* сделали модельным видом для исследования пищевых, кормовых и биотопливных злаков. Был запущен специальный проект International Brachypodium Initiative, вид был исследован с привлечением морфометрии, цитогенетики и ядерных и хлоропластных маркеров, геном полностью секвенирован (IBI, 2010). Цитогенетики показали, что диплоидный и тетраплоидный цитотипы обладают разными геномами, и то, что считалось автетраплоидом, на самом деле – другой диплоидный вид, а предполагававшийся гексаплоид на самом деле – аллотетраплоид, возникший в результате объединения двух диплоидных видов с разными хромосомными числами (Catalán et al., 2012). Морфометрический анализ подтвердил эти результаты, были описаны два новых вида *B. stacei* Catalán, Joch. Müll., Mur et Langdon и *B. hybridum* Catalán, Joch. Müll., Mur et Langdon (Catalán et al., 2012) и позднее скрещиванием двух диплоидных видов был получен синтетический гибрид, очень схожий с природным видом (Dinh Thi et al., 2016).

Повторный морфометрический анализ криптогибридов

Более пристальное морфологическое исследование образцов криптических или неявных гибридов, выявленных молекулярными методами, применение морфометрии, часто позволяет найти и морфологические, количественные или микроскопические (анатомические), признаки, подтверждающие гибридную природу данных растений, хотя это удается не всегда. После того как Haynes и Williams (1975), используя двумерную хроматографию фенольных экстрактов, показали гибридное происхождение узколистного *Potamogeton longiligulatus* от *P. strictifolius* и *P. zosteriformis*, более тщательное морфологическое исследование дополнительных экземпляров помогло найти у гибрида промежуточные морфологические признаки родителей и был описан нотовид *P. × haynesii* (Hellquist, Crow, 1986). Лишь очень внимательное изучение, в том числе в развитии, северо-американских гибридов *Potamogeton × aemulans* (*P. bicupulatus* × *P. epihydrus*), *P. × mirabilis* (*P. gramineus* × *P. oakesianus*), *P. × versicolor* (*P. epihydrus* × *P. perfoliatus*), *P. × absconditus* (*P. perfoliatus* × *P. richardsonii*), выявленных по молекуляр-

ным признакам, и сравнение с предполагаемыми родителями, позволило найти диагностические морфологические признаки этих гибридов (Kaplan et al., 2009). Специальное морфометрическое исследование показало, что промежуточными значениями обладали некоторые количественные морфологические признаки (Kaplan et al., 2009).

Сложным для определения по морфологическим признакам является инвазионный гибрид *Typha × glauca*, для надежного отличия его от родительских видов (особенно от инвазионного *T. angustifolia*) привлекали 15 качественных признаков (Kuehn, White, 1999). Дополнительный морфологический и дискриминантный анализ выборок, сформированных по результатам сравнительного анализа молекулярных маркеров, позволил авторам предложить несколько ранее не использовавшихся морфологических признаков для различения гибрида и родителей (Kuehn, White, 1999), хотя авторы последующих работ полагали, что генетический анализ более надежен (Ciotir, Freeland, 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Криптические гибриды в ботанике, по определению, это растения, возникшие в результате межвидовой гибридизации, но морфологически не отличимые от одного из своих предков. Это не является неожиданным – в конце концов, еще Кельрейтером (1766) было показано, что потомство от возвратных скрещиваний гибридов первого поколения с каждым следующим актом возвратного скрещивания все больше и больше похоже на родительский вид и в следующих поколениях от него неотличимо. Наконец, о чем, как не о криптических гибридах говорит I закон Менделя – закон единообразия первого поколения при скрещивании “чистых” линий, и открытый Менделем феномен доминирования лежит в основе как законов расщепления в генетическом эксперименте, так и наследования морфологических признаков у природных криптических межвидовых гибридов.

Строго говоря, криптический гибрид воспринимается нами как “криптический” только потому, что зрение – наше главное чувство у приматов (Dominy et al., 2004). Crypticity can be defined only according to our visual performance – писал G. Jones (1997). Иные субъекты биоты, животные и растения, морфологические, структурные и физиологические гиатусы между видами и гибридами видят в ином “свете”. И в этом смысле принципиальной разницы между “морфологически определенными” и криптическими гибридами нет. Раскрытие скрытого за морфологическим сходством биоразнообразия криптических видов и криптических гибридов с помощью генетиче-

ских, физико-химических, молекулярно-генетических, метаболомных подходов всего лишь отражает развитие аналитических возможностей человека с использованием технологических возможностей XX и XXI века (Liebeke et al., 2014; Lukhtanov, 2019; Wang et al., 2022). Практическая необходимость подобных исследований очевидна: человечество в условиях локальных мальтузианских кризисов, интенсивной экономики и глобальных экологических изменений вынуждено бороться с одними растениями и защищать, сохранять, размножать и распространять другие, изобретая и используя все новые и новые методы исследования и контроля. Исследование криптических гибридов – лишь частный случай нашего этапа изучения и освоения биоразнообразия.

После успехов в сравнительной геномике можно с уверенностью сказать, что межвидовая гибридизация – основной или один из основных путей видообразования и прогрессивной эволюции в мире растений (Rodionov et al., 2020⁹, 2022¹⁰). Естественным этапом в этом процессе является появление в природных популяциях гибридов первого и последующих поколений гибридов – возникающих с той или иной частотой интрогрессантов. Среди них лишь незначительную часть составляют особи, в морфологических характеристиках которых сочетаются признаки “хороших” видов. Большая часть существующих в природных популяциях особей – в большей или меньшей степени удаленные потомки межвидовых скрещиваний – криптические гибриды – подводная часть айсберга, огромная и малоизученная доля биоразнообразия, дающая все новый и новый материал для естественного отбора и эволюции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

см. References

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках госзадания 122011800672-6 Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН.

⁹ Родионов А.В. 2022. Тандемные дубликации генов, эуплоидия и вторичная диплоидизация – генетические механизмы видообразования и прогрессивной эволюции в мире растений. – Turczaninowia. 25 (4): 87–121. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.25.4.12>

¹⁰ Родионов А.В., Шнеер В.С., Гнутиков А.А., Носов Н.Н., Пунина Е.О., Журбенко П.М., Лоскутов И. Г., Муравенко О.В. 2020. Диалектика видов: от исходного единообразия, через максимально возможное разнообразие к конечному единообразию. – Бот. журн. 105 (9): 835–853. <https://doi.org/10.31857/S0006813620070091>

CRYPTOHYBRIDS IN PLANTS: UNDERWATER PART OF THE ICEBERG

V. S. Shneyer^{a, #}, E. O. Punina^a, V. V. Domashkina^{a, b}, and A. V. Rodionov^a

^aKomarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences
Prof. Popova Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia

^bSt. Petersburg State University
Universitetskaya Emb., 7–9, St. Petersburg, 199034, Russia

[#]e-mail: shneyer@rambler.ru

Interspecific hybridization is widespread in plants and is the most important factor in their evolution. For a long time, the main criterion for the hybrid origin of a plant was considered to be the morphological intermediacy of noticeable external characters. However, as the methods of chemistry and molecular biology are introduced into systematics and larger samples are studied, the researches increasingly identify the plants which are chemically and genetically hybrid, but are outwardly indistinguishable from the hypothetical parents or have an unusual combination of traits that does not allow us to recognize the hybridity and the parents by morphology.

Subsequent closer study of such identified “molecular hybrids” with application of morphometry often makes it possible to find morphological, often quantitative or microscopic characteristics which confirm the hybrid nature of these plants as well. Identification and study of cryptic hybrids is important for the systematics of complex taxonomic groups with wide phenotypic plasticity, with a large number of similar species, and simplified morphology. It helps to better understand the conditions under which hybridization can occur, and is important in practical terms, especially for the control of invasive species, for the protection of rare and endangered species, etc.

Keywords: cryptohybrids, plants, interspecies hybridization, morphological intermediacy of characters, “molecular hybrids”

ACKNOWLEDGMENTS

The study was conducted in the framework of the Institutional research project 122011800672-6 of the Komarov Botanical Institute of RAS.

REFERENCES

- Alston R.E., Turner B.L., Lester R.N., Horne D. 1962. Chromatographic Validation of Two Morphologically Similar Hybrids of Different Origins. — *Science*. 137 (3535): 1048–1050.
<https://doi.org/10.1126/science.137.3535.1048>.
- Ayres D.R., Garcia-Rossi D., Davis H.G., Strong D.R. 1999. Extent and degree of hybridization between exotic (*Spartina alterniflora*) and native (*S. foliosa*) cordgrass (Poaceae) in California, USA determined by random amplified polymorphic DNA (RAPDs). — *Molec. Ecol.* 8 (7): 1179–1186.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00679.x>
- Ayres D.R., Zaremba K., Sloop C.M., Strong D.R. 2008. Sexual reproduction of cordgrass hybrids (*Spartina foliosa* × *alterniflora*) invading tidal marshes in San Francisco Bay. — *Diversity and Distributions*. 14: 187–195.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00414.x>
- Baiakhmetov E., Ryzhakova D., Gudkova P.D., Nobis M. 2021. Evidence for extensive hybridization and past introgression events in feather grasses using genome-wide SNP genotyping. — *BMC Plant Biol.* 21: 505.
<https://doi.org/10.1186/s12870-021-03287-w>
- Bateman R.M., Murphy A.R.M., Tattersall B.G. 2017. × *Dactyloadenia lacerta* (Orchidaceae): a morphologically cryptic hybrid orchid new to science from the Lizard Peninsula, Cornwall. — *New Journal of Botany*. 7 (2–3): 64–77.
<https://doi.org/10.1080/20423489.2017.1408189>
- Bean D., Dudley T. 2018. A synoptic review of *Tamarix* bio-control in North America: tracking success in the midst of controversy. — *BioControl*. 63 (3): 361–376.
- Beatty G.E., Barker L., Chen P.-P., Kelleher C.T., Provan J. 2015. Cryptic introgression into the kidney saxifrage (*Saxifraga hirsuta*) from its more abundant sympatric congener *Saxifraga spathularis*, and the potential risk of genetic assimilation. — *Ann. Bot.* 115 (2): 179–86.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcu226>.
- Beatty G.E., Philipp M., Provan J. 2009. Unidirectional hybridization at a species’ range boundary: implications for habitat tracking. — *Diversity and Distributions*. 16 (1): 1–9.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2009.00616.x>
- Beirinckx L., Vanschoenwinkel B., Triest L. 2020. Hidden Hybridization and Habitat Differentiation in a Mediterranean Macrophyte, the Euryhaline Genus *Ruppia*. — *Front. Plant Sci.* 11: 830.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00830>
- Belyakov E.A., Mikhaylova Y.V., Machs E.M., Zhurbenko P.M., Rodionov A.V. 2022. Hybridization and diversity of aquatic macrophyte *Sparganium* L. (Typhaceae) as revealed by high-throughput nrDNA sequencing. — *Scientific Reports*, 12 (1): 1–12.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-25954-0>

- Bentham G., Hooker J. 1862–1887. *Genera plantarum*. Londini. Vol. 1–3.
- Borkin L.Ya., Litvinchuk S.N. 2013. Gibrizatsiya, vido-obrazovaniye i sistematika zhivotnykh. [Animal hybridization, speciation and systematics] – Trudy Zoologicheskogo Instituta RAN. Prilozheniye 2: 83–139.
- Boswell A., Sing S.E., Ward S.M. 2016. Plastid DNA Analysis Reveals Cryptic Hybridization in Invasive Dalmatian Toadflax (*Linaria dalmatica*) Populations. – *Invasive Plant Science and Management*. 9: 112–120. <https://doi.org/10.1614/IPSM-D-16-00003.1>
- Buck R., Hyasat S., Hossfeld A., Flores-Renteria L. 2020. Patterns of hybridization and cryptic introgression among one- and four-needled pinyon pines. – *Ann. Bot.* 126: 401–411. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa045>
- Butkuvienė J., Sinkevičienė Z., Naugžemys D., Žvingila D., Skridaila A., Bobrov A.A. 2020. Genetic Diversity of Aquatic *Ranunculus* (*Batrachium*, Ranunculaceae) in One River Basin Caused by Hybridization. – *Plants*. 9: 1455. <https://doi.org/10.3390/plants9111455>
- Catalán P., Müller J., Hasterok R., Jenkins G., Mur L.A., Langdon T., Betekhtin A., Siwinska D., Pimentel M., López-Alvarez D. 2012. Evolution and taxonomic split of the model grass *Brachypodium distachyon*. – *Ann. Bot.* 109 (2): 385–405. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr294>
- Ciotir C., Freeland J.R., 2016. Cryptic intercontinental dispersal, commercial retailers, and the genetic diversity of native and non-native cattails (*Typha* spp.) in North America. – *Hydrobiologia*. 768: 137–150.
- DeLoach C.J., Lewis P.A., Herr J.C., Carruthers R.I., Tracy J.L., Johnson J. 2003. Host specificity of the leaf beetle, *Diorhabda elongata deserticola* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Asia, a biological control agent for saltcedars (*Tamarix*: Tamaricaceae) in the Western United States. – *Biological Control*. 27 (2): 117–147.
- Desjardins S.D., Leslie A.L., Stace C.A., Schwarzacher T., Bailey J.P. 2015. Intergeneric hybridisation between *Berula erecta* and *Helosciadium nodiflorum* (Apiaceae). – *Taxon*. 64 (4): 784–794.
- Dinh Thi V.H., Coriton O., Le Clainche I., Arnaud D., Gordon S.P., Linc G., Catalán P., Hasterok R., Vogel J.P., Jahier J., Chalhoub B. 2016. Recreating stable *Brachypodium hybridum* allotetraploids by uniting the divergent genomes of *B. distachyon* and *B. stacei*. – *PLoS One*. 11 (12): e0167171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167171>
- Dominy N.J., Ross C.F., Smith T.D. 2004. Evolution of the special senses in primates: past, present, and future. – *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 281 (1): 1078–1082.
- Douglas G.M., Gos G., Steige K.A., Salcedo A., Holm K., Josephs E.B., Arunkumar R., Ågren J.A., Hazzouri K.M., Wang W., Platts A.E., Williamson R.J., Neuffer D., Lascoux M., Slotte T., Wright S.I. 2015. Hybrid origins and the earliest stages of diploidization in the highly successful recent polyploid *Capsella bursa-pastoris*. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112(9): 2806–2811. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412277112>
- Du Z.-Y., Yang C.-F., Chen J.-M., Guo Y.-H., Kadiri A.B. 2010. Using DNA-based techniques to identify hybrids among linear-leaved *Potamogeton* plants collected in China. – *Journal of Systematics and Evolution* 48 (4): 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2010.00089.x>
- Ellstrand N.C., Whitkus R., Rieseberg L.H. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97: 7043–7050.
- Ferguson D., Sang T. 2001. Speciation through homoploid hybridization between allotetraploids in peonies (*Paeonia*). – *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98(7): 3915–3919.
- Focke W.O. 1881. *Die Pflanzen-Mischlinge: Ein Beitrag zur Biologie der Gewächse*. – Berlin. 578 S.
- Gaskin J.F., Schaal B.A. 2002. Hybrid *Tamarix* widespread in U.S. invasion and undetected in native Asian range. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99(17): 11256–11259. https://doi.org/10.1073_pnas.132403299
- Gaskin J.F., Schaal B.A. 2003. Molecular Phylogenetic Investigation of U.S. Invasive *Tamarix*. – *Syst. Bot.* 28(1): 86–95. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-28.1.86>
- Gleason H.A., Cronquist A. 1963. *Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada*. Van Nostrand Company, Princeton, NJ. 810 p.
- Glisson W., Larkin D.J. 2021. Hybrid watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* × *Myriophyllum sibiricum*) exhibits traits associated with greater invasiveness than its introduced and native parental taxa. – *Biological Invasions* 23(8): 2417–2433. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02514-7>
- Gnutikov A.A., Nosov N.N., Koroleva T.M., Punina E.O., Probatova N.S., Shneyer V.S., Rodionov A.V. 2022a. Origin of the Rare Hybrid Genus × *Trisetokoeleria* Tzvelev (Poaceae) According to Molecular Phylogenetic Data – *Plants*. 11(24): 3533.
- Gnutikov A.A., Nosov N.N., Loskutov I.G., Machs E.M., Blinova E.V., Probatova N.S., Langdon T., Rodionov A.V. 2022b. New insights into the genomic structure of the oats (*Avena* L., Poaceae): intragenomic polymorphism of ITS1 sequences of rare endemic species *Avena bruhnsiana* Gruner and its relationship to other species with C-genomes – *Euphytica*. 218: 3. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02956-z>
- Haynes R.R., Williams D.C. 1975. Evidence for the hybrid origin of *Potamogeton longiligulatus* (Potamogetonaceae). – *Michigan Bot.* 14: 94–100.
- Hellquist C.B., Crow G.E. 1986. *Potamogeton* × *haynesii* (Potamogetonaceae), a new species from northeastern North America. – *Brittonia*, 38(4): 415–419.
- Hettiarachchi P., Triest L. 1991. Isozyme polymorphism in the genus *Potamogeton* (Potamogetonaceae). – *Opera Bot. Belg.* 4: 87–114.
- Hill M.O., Preston C.D., Roy D.B. 2004. PLANTATT: attributes of British and Irish plants: status, size, life history, geography and habitats. Huntingdon: Centre for Ecology and Hydrology. 72 p.

- Hollingsworth P.M., Preston C.D., Gornall R. J. 1995. Isozyme evidence for hybridization between *Potamogeton natans* and *P. nodosus* (Potamogetonaceae) in Britain. — Bot. J. Linn. Soc. 117: 59–69.
- IBI. 2010. Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. — Nature. 463: 763–768.
<https://doi.org/10.1038/nature08747>
- Isoda K., Shiraishi S., Watanabe S., Kitamura K. 2000. Molecular evidence of natural hybridization between *Abies veitchii* and *A. homolepis* (Pinaceae) revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers. — Mol. Ecol. 9 (12): 1965–1974.
- Janzen D.H. 1979. How to Be a Fig. — Annu. Rev. Ecol. Syst. 10: 13–51.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.10.110179.000305>
- Jasińska A.K., Wachowiak W., Muchewicz E., Boratyńska K., Montserrat J.M., Boratyński A. 2010. Cryptic hybrids between *Pinus uncinata* and *P. sylvestris*. — Bot. J. Linn. Soc. 163: 473–485.
- Jeffrey E.C. 1915. Some fundamental morphological objections to the mutation theory of de Vries. — The Amer. Nat. 49 (577): 5–121.
- Jones G. 1997. Acoustic signals and speciation: the roles of natural and sexual selection in the evolution of cryptic species. — Advances in the Study of Behaviour, 26: 317–354.
- Kaplan Z., Fehrer J. 2006. Comparison of natural and artificial hybridization in *Potamogeton*. — Preslia 78: 303–316.
- Kaplan Z., Fehrer J. 2011. Erroneous identities of *Potamogeton* hybrids corrected by molecular analysis of plants from type clones. — Taxon. 60 (3): 758–766.
<https://doi.org/10.1002/tax.603011>
- Kaplan Z., Fehrer J., Bamasová V., Hellquist C.B. 2018. The endangered Florida pondweed (*Potamogeton floridanus*) is a hybrid: Why we need to understand biodiversity thoroughly. — PLoS ONE 13 (4): e0195241.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195241>
- Kaplan Z., Fehrer J., Hellquist C.B. 2009. New hybrid combinations revealed by molecular analysis: The unknown side of North American pondweed diversity (*Potamogeton*). — Syst. Bot. 34: 625–642.
<https://doi.org/10.1600/036364409790139745>
- Kartzinel R.Y., Spalink D., Donald M., Waller D.M., Givnish T.J. 2016. Divergence and isolation of cryptic sympatric taxa within the annual legume *Amphicarpaea bracteata*. — Ecology and Evolution. 6 (10): 3367–3379.
<https://doi.org/10.1002/ece3.2134>
- Kellogg E.A., Appels R., Mason-Gamer R.J. 1996. When genes tell different stories: the diploid genera of Triticeae (Gramineae). — Syst. Bot. 21 (3): 321–347.
- Khlestkina E.K. 2013. Molekulyarnyie markery v geneticheskikh issledovaniyakh i v selektsii [Molecular markers in genetical researches and in selection]. — Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 17 (4): 1044–1054.
- Kölreuter J.G. 1761–1766. Vorläufige Nachricht von einigen das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen. Leipzig. 420 S.
- Komarov V.L. 1940. Ucheniye o vide u rasteniy. [The doctrine of the species in plants] Moscow, Leningrad: Izdatel'stvo AN SSSR. 212 p.
- Kook E., Vedler E., Püssa K., Kalamees R., Reier Ü., Pihu S. 2015. Intra-individual ITS polymorphism and hybridization in *Pulmonaria obscura* Dumort. and *Pulmonaria angustifolia* L. (Boraginaceae). — Plant Syst. Evol. 301: 893–910.
<https://doi.org/10.1007/s00606-014-1123-8>
- Knobloch I. W. 1972. Intergeneric Hybridization in Flowering Plants. — Taxon. 21 (1): 97–103.
- Kuehn M.M., Minor J.E., White B.N. 2000. An examination of hybridization between the cattail species *Typha latifolia* and *Typha angustifolia* using random amplified polymorphic DNA and chloroplast DNA. — Mol. Ecol. 8 (12): 1981–1990.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00792.x>
- Kuehn M.M., White B.N. 1999. Morphological analysis of genetically identified cattails *Typha latifolia*, *Typha angustifolia*, and *Typha* × *glauca*. — Can. J. Bot. 77: 906–912.
- Kutsev M.G. 2009. Fragmentnyi analiz DNK rasteniy: RAPD, DAF, ISSR [An analysis of plant DNA fragments: RAPD, DAF, ISSR]. Barnaul, 163 p.
- LaRue E.A., Grimm D., Thum R.A. 2013. Laboratory crosses and genetic analysis of natural populations demonstrate sexual viability of invasive hybrid watermilfoils (*Myriophyllum spicatum* × *M. sibiricum*). — Aquat. Bot. 109: 49–53.
<https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.04.004>
- Les D.H., Philbrick C.T. 1993. Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. — Aquatic Botany. 44: 181–228.
- Levin D.A. 1967a. An analysis of hybridization in *Liatris*. — Brittonia. 19: 248–260.
- Levin D.A. 2012. The long wait for hybrid sterility in flowering plants. — New Phytologist 196: 666–670.
- Levin D.A., Francisco-Ortega J., Jansen R.K. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. — Conservation Biology. 10: 10–16.
- Liebeke M., Bruford M.W., Donnelly R.K., Ebbels T.M., Hao J., Kille P., Lahive E., Madison R., Morgan A.J., Pinto-Juma G.A., Spurgeon D.J., Svendsen C., Bundy J.G. 2014. Identifying biochemical phenotypic differences between cryptic species. — Biology letters, 10 (9): 20140615.
- Lukhtanov V.A. 2019. Species delimitation and analysis of cryptic species diversity in the XXI century. — Entomological Review 99: 463–472.
- Ma Y.-P., Tian X.-L., Zhang J.-L., Wu Z.-K., Sun W.-B. 2019. Evidence for natural hybridization between *Primula beesiana* and *P. bulleyana*, two heterostylous primroses in NW Yunnan, China. — Journal of Systematics and Evolution. 52 (4): 1–8.
<https://doi.org/10.1111/jse.12077>
- Mallet J. 2005. Hybridization as an invasion of the genome. — Trends Ecol. Evol. 20 (5): 229–237.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- Martinsson K. 1991. Natural hybridization within the genus *Callitriche* (Callitrichaceae) in Sweden — Nord. J. Bot. 11: 143–151.

- Mayonde S.G., Cron G.V., Gaskin J.F., Byrne M.J. 2016. *Tamarix* (Tamaricaceae) hybrids: the dominant invasive genotype in southern Africa. – *Biol. Invasions*. 18: 3575–3594.
<https://doi.org/10.1007/s10530-016-1249-4>
- McIntosh E.J., Rossetto M., Weston P.H., Wardle G.M. 2014. Maintenance of strong morphological differentiation despite ongoing natural hybridization between sympatric species of *Lomatia* (Proteaceae). – *Ann. Bot.* 113: 861–872.
- Mitchell N., Holsinger K.E. 2018. Cryptic natural hybridization between two species of *Protea*. – *South Afr. J. Bot.* 118: 306–314.
- Montes J.R., Peláez P., Willyard A., Moreno-Letelier A., Picero D., Gernandt D.S. 2019. Phylogenetics of *Pinus* subsection *Cembroides* Engelm. (Pinaceae) inferred from low-copy nuclear gene sequences. – *Syst. Bot.* 44: 501–518.
- Moody M.L., Les D.H. 2002. Evidence of hybridity in invasive watermilfoil (*Myriophyllum*) populations. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (23): 14867–14871.
<https://doi.org/10.1073/pnas.172391499>
- Moody M.L., Les D.H. 2007. Geographic distribution and genotypic composition of invasive hybrid watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* × *M. sibiricum*) populations in North America. – *Biol. Invasions* 9: 559–570.
<https://doi.org/10.1007/s10530-006-9058-9>
- Parker M.A. 1996. Cryptic species within *Amphicarpaea bracteata* (Leguminosae): evidence from isozymes, morphology, and pathogen specificity. – *Can. J. Bot.* 74: 1640–1650.
- Parker M.A., Doyle J.L., Doyle J.J. 2004. Comparative phylogeography of *Amphicarpaea* legumes and their rootnodule symbionts in Japan and North America. – *J. Biogeogr.* 31: 425–434.
- Parrish T.L., Koelewijn H.P., van Dijk P.J., Kruijt M. 2003. Genetic evidence for natural hybridization between species of dioecious *Ficus* on island populations. – *Biotropica* 35 (3): 333–343.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2003.tb00587.x>
- Peto F.H. 1938. Cytology of poplar species and natural hybrids. – *Can. J. Res.*, 16 (11): 445–455.
- Prančl J., Fehrer J., Caklová P., Bambasová V., Lučanová M., Kaplan Z. 2020. Intricate evolutionary history of *Callitriche* (Plantaginaceae) taxa elucidated by a combination of DNA sequencing and genome size. – *Taxon*. 69 (5): 1016–1041.
<https://doi.org/10.1002/tax.12315>
- Prančl J., Kaplan Z., Trávníček P., Jarolímová V. 2014. Genome size as a key to evolutionary complex aquatic plants: polyploidy and hybridization in *Callitriche* (Plantaginaceae). – *PLoS ONE*. 9 (9): e105997.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105997>
- Prančl J., Koutezky P., Trávníček P., Jarolímová V., Lučanová M., Koutecka E., Kaplan Z. 2018. Cytotype variation, cryptic diversity and hybridization in *Ranunculus* sect. *Batrachium* revealed by flow cytometry and chromosome numbers. – *Preslia* 90: 195–223.
- Preston C.D., Pearman D.A. 2015. Plant hybrids in the wild: evidence from biological recording. – *Biol. J. Linn. Soc.* 115: 555–572.
- Punina E.O., Machs E.M., Krapivskaya E.E., Kim E.S., Mordak E.V., Myakoshina Y.A., Rodionov A.V. 2012. Interspecific hybridization in the genus *Paeonia* (Paeoniaceae): Polymorphic sites in transcribed spacers of the 45S rRNA genes as indicators of natural and artificial peony hybrids – *Russian J. Genet.* 48 (7): 684–697.
- Punina E.O., Shneyer V.S., Nosov N.N., Gnutikov A.A., Rodionov A.V. 2021. The importance of hybridization in the study of the biodiversity of flowering plants. – *Problems of botany of South Siberia and Mongolia*. 20 (2): 59–63.
<https://doi.org/10.14258/pbssm.2021120>. EDN: UOI-OLT.
- Ramirez B.W. 1974. Coevolution of *Ficus* and Agaonidae. – *Ann. Mo. Bot. Garden*. 61: 770–780.
<https://doi.org/10.2307/2395028>
- Rieseberg L.H. 1997. Hybrid origins of plant species. – *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28:359–89.
- Rieseberg L.H., Ellstrand N.C., Arnold M. 1993. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. – *Critical Reviews in Plant Sciences*. 12: 213–241.
- Rieseberg L.H., Wood T.E., Baack E. J. 2006. The nature of plant species. – *Nature* 440: 524–527.
- Rodionov A.V. 2022. Tandem duplications, euployploidy and secondary diploidization – genetic mechanisms of plant speciation and progressive evolution. – *Turczaninowia*. 25 (4): 87–121.
<https://doi.org/10.14258/turczaninowia.25.4.12>
- Rodionov A.V., Amosova A.V., Belyakov E.A., Zhurbenko P.M., Mikhailova Yu. V., Punina E.O., Shneyer V.S., Loskutov I.G., and Muravenko O.V. 2019. Genetic Consequences of Interspecific Hybridization, Its Role in Speciation and Phenotypic Diversity of Plants. – *Genetika*. 55 (3): 255–272.
<https://doi.org/10.1134/S0016675819030159>
- Rodionov A.V., Shneyer V.S., Gnutikov A.A., Nosov N.N., Punina E.O., Zhurbenko P.M., Loskutov I.G., and Muravenko O.V. 2020. Species dialectics: from initial uniformity, through the greatest possible diversity to ultimate uniformity. – *Botanicheskii Zhurnal*. 105 (9): 835–853.
<https://doi.org/10.31857/S0006813620070091>
- Sang T., Crawford D.J., Stuessy T.F. 1995. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA; implications for biogeography and concerted evolution. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92 (15): 6813–6817.
<https://doi.org/10.31857/S0006813620070091>
- Sang T., Zhong Y. 2000. Testing hybridization hypotheses based on incongruent gene trees. – *Syst. Biol.* 49 (3): 422–434.
- Smirnov S., Skaptsov M., Shmakov A., Fritsch R.M., Friesen N. 2017. Spontaneous hybridization among *Allium tulipifolium* and *A. robustum* (*Allium* subg. *Melanocrommyum*, Amaryllidaceae) under cultivation. – *Phytotaxa*, 303 (2): 155–164.
- Smith D.M., Levin D.A. 1963. A Chromatographic Study of Reticulate Evolution in the Appalachian *Asplenium* Complex. – *Amer. J. Bot.* 50 (9): 952–958.

- Soltis D.E., Kuzoff R.K. 1995. Discordance between nuclear and chloroplast phylogenies in the *Heuchera* group (Saxifragaceae). — *Evolution*. 49: 727–742.
- Stace C.A. 1984. Chromosome numbers of British plants, 7. — *Watsonia* 15: 38–39.
- Stace C.A. 2010. New flora of the British Isles, 3 edn. Cambridge: Cambridge University Press. 1266 p.
- Stace C.A., Preston C.D., Pearman D.A. 2015. Hybrid flora of the British Isles. Bristol: Botanical Society of Britain and Ireland. 500 p.
- Surveswarana S., Gowdab V., Mei Sun M. 2018. Using an integrated approach to identify cryptic species, divergence patterns and hybrid species in Asian ladies' tress-orchids (*Spiranthes*, Orchidaceae). — *Mol. Phyl. Evol.* 124: 106–121.
- Sweigart A.L., Martin N.H., Willis J.H. 2008. Patterns of nucleotide variation and reproductive isolation between a *Mimulus* allotetraploid and its progenitor species. — *Molec. Ecol.* 17: 2089–2100. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03707.x>
- Taylor L.A. L., Mcnair J.N., Guastello P., Pashnick J., Thum R.A. 2017. Heritable variation for vegetative growth rate in ten distinct genotypes of hybrid water-milfoil. — *J. Aquat. Plant Manag.* 55: 51–57.
- Trusty J.L., Lockaby B.G., Zipperer W.C., Goertzen L.R. 2007. Identity of naturalised exotic *Wisteria* (Fabaceae) in the south-eastern United States. — *Weed Research*. 47: 479–487. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2007.00587.x>
- Tsai L., Hayakawa H., Fukuda T., Yokoyama J. 2015. A breakdown of obligate mutualism on a small island: an interspecific hybridization between closely related fig species (*Ficus pumila* and *Ficus thunbergii*) in western Japan. — *Am. J. Plant Sci.* 6: 126–131. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.61014>
- Tschermak E. 1907. The importance of hybridization in the study of descent. Report of the Third International Conference 1906 on Genetics: Hybridisation (the Cross-breeding of Genera or Species), the Cross-breeding of Varieties, and General Plant-breeding. Ed. W. Wilks, Royal Horticultural Society, 1907. P. 278–284.
- Tsvelev N.N. 2000. Opredelitel' sosudistykh rasteniy Severo-Zapadnoy Rossii (Leningradskaya, Pskovskaya i Novgorodskaya oblasti) [Key to vascular plants of North-Western Russia (Leningrad, Pskov and Novgorod regions)]. — St. Petersburg. 781 s.
- Wang J., Fu C.N., Mo Z.Q., Möller M., Yang J.B., Zhang Z.R., Li D.Z., Gao L.M. 2022. Testing the complete plastome for species discrimination, cryptic species discovery and phylogenetic resolution in *Cephalotaxus* (Cephalotaxaceae). — *Frontiers in Plant Science*, 13: 768810.
- Whitney K.D., Ahern J.R., Campbell L.G., Albert L.P., King, M.S. 2010. Patterns of hybridization in plants. — *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 12: 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.02.002>
- Wiegand G., Kaplan Z. 1998. An account of the species of *Potamogeton* L. (Potamogetonaceae). — *Folia Geobot.* 33: 241–316.
- Xiao Y.-E., Yu F.-Y., Zhou X.-F. 2021. A new natural hybrid of *Iris* (Iridaceae) from Chongqing, China. — *PhytoKeys*. 174: 1–12. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.174.62306>
- Zalapa J.E., Brunet J., Guries R.P. 2010. The extent of hybridization and its impact on the genetic diversity and population structure of an invasive tree, *Ulmus pumila* (Ulmaceae). — *Evolutionary Applications*. 3 (2): 157–168. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2009.00106.x>
- Zalewska-Gałosz J., Kaplan Z., Kwolek D. 2018. Reinterpretation of *Potamogeton* × *nerviger*: solving a taxonomic puzzle after two centuries. — *Preslia*. 90: 135–149. <https://doi.org/10.23855/preslia.2018.135>