

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ КРИТИЧЕСКОГО ТАКСОНА *LEYMUS BURIATICUS* (POACEAE) ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И SDS-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ЭНДОСПЕРМА И ГИСТОНА H1

Н.К. БАДМАЕВА¹, А.С. ЛИПИН², А.В. АГАФОНОВ²

TAXONOMIC STATUS OF *LEYMUS BURIATICUS* (POACEAE) BY THE RESULTS OF MORPHOLOGICAL ANALYSIS AND SDS-ELECTROPHORESIS OF STORAGE ENDOSPERM PROTEINS AND HISTON H1

N.K. BADMAYEVA, A.S. LIPIN, A.V. AGAFONOV

¹Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, 670047 Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6
Institute of General and Experimental Biology, SB RAS, Ulan-Ude, Sakhyanovoу st., 6
Fax: +7 (3012) 433–034; e-mail: badmayevan@mail.ru

²Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, 630090 Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, 630090 Novosibirsk, Zolotodolinskaya st., 101
Fax: +7 (383) 330–19–86; e-mail: agalex@mail.ru

Проведено комплексное изучение критического таксона *Leymus buriaticus* Peschkova в сравнении с природными и интродукционными популяциями *L. littoralis* и *L. chinensis* из разных мест Республики Бурятия. Проведенный факторный анализ по 15 морфологическим признакам показал, что *L. buriaticus* занимает промежуточное положение между *L. littoralis* и *L. chinensis*. Метод SDS-электрофореза индивидуальных семян показал наличие сходства связей между образцами, определяемыми как *L. buriaticus*, с выборочными образцами *L. littoralis* и *L. chinensis* в смешанной популяции из классического местонахождения. Анализ субфракционного состава гистона H1 также выявил наличие общих субфракций *L. buriaticus* с *L. littoralis* и *L. chinensis*. Сделан вывод, что эндемичный вид *L. buriaticus* имеет гибридное происхождение.

Ключевые слова: *Leymus*, *L. buriaticus*, *L. littoralis*, *L. chinensis*, таксон, морфотип, систематика, SDS-электрофорез, белки эндосперма.

A comprehensive study of the critical taxon *Leymus buriaticus* Peschkova was carried out in comparison with natural and cultivated populations of *L. littoralis* and *L. chinensis* from various localities in Buryatia. The factorial analysis performed by 15 morphological characters showed that *L. buriaticus* occupied an intermediate position between *L. chinensis* and *L. littoralis*. SDS-electrophoresis of individual seeds showed presence of similarity of relations between samples identified as *L. buriaticus* and selected samples of *L. littoralis* and *L. chinensis* in mixed population from a classical locality. The analysis of subfractional composition of histon H1 also revealed presence of common subfractions of *L. littoralis*, *L. chinensis* and *L. buriaticus*. It was concluded that the endemic *L. buriaticus* was of a hybrid origin.

Key words: *Leymus*, *L. buriaticus*, *L. littoralis*, *L. chinensis*, taxon, morphotype, systematization, SDS-electrophoresis, grain storage proteins.

ВВЕДЕНИЕ

В ходе критического изучения сибирских видов рода *Leymus* Hochst. нами ранее был сделан вывод, что в нём существует достаточно много критических видов, на обоснованность которых не существует единого мнения. К ним относятся виды: *L. ordensis*, *L. dasystachys*, *L. ovatus* (Липин, Агафонов, 2007; Липин и др., 2008). Последние два являются проявлением популяционно-генетической или модификационной изменчивости единого комплекса (Липин, Агафонов, 2007). *L. buriaticus* Peschkova также относится к критическим видам рода. Он описан из окрестностей железнодорожной стан-

ции Гусиное озеро Республики Бурятия (Пешкова, 1985). Во «Флоре Сибири» Г.А. Пешкова (1990) уточнила распространение этого вида и значительно расширила его ареал. По ее мнению вид встречается в Бурятии, Иркутской области и Якутии. В Гербарии им. М.Г. Попова (NSK) Центрального сибирского ботанического сада СО РАН хранится 13 образцов данного таксона из Республики Тува, Иркутской и Читинской областей. Ранее собранные образцы этого вида были идентифицированы как *L. dasystachys* (Trin.) Pilger, либо как *L. chinensis* (Trin.) Tzvel.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Гербарный материал. Для установления таксономически значимых морфологических признаков были изучены образцы (в том числе типовые), хранящиеся в гербариях Ботанического института им. В.А. Комарова РАН (LE, г. Санкт-Петербург) и Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (NS, NSK, г. Новосибирск) и гербарии им. П.Н. Крылова Томского государственного университета (ТК). Дополнительно привлечены собственные сборы авторов *L. buriaticus* из locus classicus (Республика Бурятия, ст. Гусиное озеро). Также морфологические признаки изучены у растений из природных популяций видов *L. chinensis*, *L. littoralis*, из классического местонахождения *L. buriaticus*. Общая выборка составляет 60 растений.

Растительный материал. Изучены выборки растений, выращенные на экспериментальном участке ЦСБС СО РАН из семян разных природных популяций и живых растений (табл. 1). Гусиноозерская популяция GUSL-0429 расположена в классическом месте произрастания *L. buriaticus* и содержат морфотипы, признаки которых наиболее полно соответствуют типовым образцам.

Морфологический анализ. Анализировалась изменчивость 15 морфологических признаков у трех исследованных видов: 1 — высота растения; 2 — длина колоса; 3 — длина колоска; 4 — количество цветков в колоске; 5 — длина нижней колосковой чешуи ($L_{НКЧ}$); 6 — длина верхней колосковой чешуи ($L_{ВКЧ}$); 7 — длина нижней цветковой чешуи ($L_{НЦЧ}$); 8 — длина верхней цветковой чешуи ($L_{ВЦЧ}$); 9 — длина ости нижней цветковой чешуи; 10 — ширина нижней цветковой чешуи; 11 — ширина основания нижней колосковой чешуи; 12 — количество колосков на уступе; 13 — отношение длины нижней

колосковой чешуи к длине нижней цветковой чешуи ($L_{НКЧ}/L_{НЦЧ}$); 14 — длина волосков нижней цветковой чешуи; 15 — количество волосков на нижней цветковой чешуе на 1 мм².

Измерения проводились с помощью сантиметровой линейки (признаки 1, 2, 3), окуляр-микрометра МБС-10 (5–10, 14). Количество волосков на нижней цветковой чешуе считали на временных препаратах, сделанных с нижней части НЦЧ у нижних цветков в колоске, взятых со средней части колоса под увеличением 20 × 16, затем проводили пересчет на 1 мм² по формуле: кол-во волосков на 1 мм² = (кол-во волосков в поле зрения микроскопа × 1 (мм²))/S поля зрения микроскопа (мм²).

Статистическую обработку морфометрических данных проводили при помощи пакета программ SPSS 13.0 for Windows.

Электрофорез. Выделение и электрофорез белков эндосперма и гистона H1 в SDS-системе Laemmli (1970) проводили по оригинальным методикам (Агафонов, Агафонова, 1992; Агафонов, Баум, 2000; Костина, Агафонов, 2002). В качестве стандарта в каждом опыте использовали образец ALT-8401 *E. sibiricus* L., белковые компоненты которого сравнивались ранее со стандартными наборами маркеров молекулярных масс. Для более точной идентификации каждого компонента построена общая шкала относительной электрофоретической подвижности (ОЭП), позволяющая сравнивать результаты разных опытов.

Нумерический анализ. Построение матрицы по субфракционному составу гистона H1 проведено по наличию (1) или отсутствию (0) компонента для каждого из изученных образцов. Выполнен кластерный анализ сходства образцов по методам

Наименование, видовая принадлежность и места сбора изучаемых выборок и популяций

Код образца	Предварительное определение (по Пешковой, 1990)	Местонахождение и авторы сбора
ORDL-0430	<i>L. ordensis</i>	Иркутская обл., окр. пос. Усть-Орда, пойма р. Куда; 0,5 км на восток от моста через р. Куда, классическое местонахождение, alt. 499 м, N 52°46.6' E 104°44.5' (Н. Бадмаева)
TURL-0515	<i>L. chinensis</i>	Бурятия, Прибайкальский р-н, окр. пос. Турунтаево, южный склон холма вдоль автотрассы Турунтаево — Засушино, alt. 507 м, N 52°11.932' E 107°36.700' (А. Агафонов, Д. Герус)
OLHL-0409	<i>L. chinensis</i>	Иркутская обл., о. Ольхон, у переправы (Н. Бадмаева)
OLHL-0434	<i>L. chinensis</i>	Иркутская обл., о. Ольхон, Тажеранская степь (Н. Бадмаева)
HIML-0436	<i>L. chinensis</i>	Бурятия, Еравнинский р-н, окр. оз. Хайминсан, популяция № 2 (Н. Бадмаева)
OROL-0516	<i>L. chinensis</i>	Бурятия, граница Иволгинского и Селенгинского р-нов, окр. пос. Оронгой, сев. склон холма у автотрассы Улан-Удэ — Гусиноозерск, alt. 551 м, N 51°31.936' E 106°58.763' (А. Агафонов)
TSRL-0510	<i>L. ramosus</i>	Тува, Тес-Хемский р-н, дол. р. Шуурмак, луг, речная терраса р. Узун-Кураган, alt. 1041 м, N 50°44.325' E 95°18.824' (Н. Бадмаева, А. Агафонов)
BSDL-0570	<i>L. chinensis</i>	Бурятия, Прибайкальский р-н, окр. с. Степной Дворец (Н. Бадмаева).
GUSL-0429	<i>L. buriaticus</i>	Бурятия, Селенгинский р-н, окр. ст. Гусиное озеро, заросшие пески, alt. 550 м N 51°8.33' E 106°17.26' (Н. Бадмаева)
OROL-0417	<i>L. littoralis</i>	Бурятия, граница Иволгинского и Селенгинского р-нов, окр. пос. Оронгой, сев. склон холма у автотрассы Улан-Удэ — Гусиноозерск, alt. 551 м, N 51°31.936' E 106°58.763' (А. Агафонов)
BILL-0439	<i>L. littoralis</i>	Бурятия, пос. Билютай, протока по р. Селенга, пески, alt. 642 м N 50°53.382' E 106°12.763' (Н. Бадмаева).
GUSL-0431	<i>L. littoralis</i>	Бурятия, Селенгинский р-н, окр. ст. Гусиное озеро, заросшие пески, N 51°6.45' E 106°15.11' (Н. Бадмаева)
GUSL-0432	<i>L. littoralis</i> × <i>Elytrigia repens</i>	Бурятия, Селенгинский р-н, окр. ст. Гусиное озеро, заросшие пески, N 51°6.45' E 106°15.11' (Н. Бадмаева)
TERL-0564	<i>Leymus</i> × <i>Elytrigia repens</i>	Тува, Эрзинский р-н, пойма р. Эрзин, alt. 1070 м N 50°16.059' E 95°08.300' (Н. Бадмаева, А. Агафонов)
SULL-0432	<i>L. paboanus</i>	Бурятия, Селенгинский район, у соленого озера Сульфатное, N 51°24.134' E 106°31.582' (Н. Бадмаева)

Уорда (Ward's method) и «полной связи» (complete linkage) с использованием коэффициента Сити-блок (Manhattan distance). Расчеты выполнены с исполь-

зованием компьютерной программы STATISTICA for Windows (version 5.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ морфологической изменчивости признаков

Для описания и разграничения видов и надвидовых таксонов рода *Leymus* используют большей частью количественные и качественнее признаки генеративной сферы. Основными диагностическими признаками являются строение и опушение нижних и верхних колосковых чешуй, нижних и верхних цветковых чешуй, опушение оси колоса и колоска, опушенность каллуса, количество колосков на уступе, размеры колоса, жизненные формы растений, ребристость и опушенность листовых пластинок (Цвелев, 1976; Пешкова, 1990).

L. chinensis (Trin.) Tzvel. относится к секции *Anisopyrum* (Griseb.) Tzvel. и характеризуется линейно-шиловидными колосковыми чешуями (КЧ),

голыми нижними цветковыми чешуями (НЦЧ), почти голой осью колоска с шипиками и колосками, сидящими по 1 (2) на уступе. Для *L. littoralis* (Griseb.) Peschkova из секции *Aphanoneuron* (Nevski) Tzvel. также характерны линейно-шиловидные КЧ, но НЦЧ опушены, и колоски сидят на уступе по 2–3 (Цвелев, 1976; Пешкова, 1990). *L. chinensis* отличается от *L. littoralis* более короткими КЧ, колосками, сидящими по 1–2 на уступе и голыми НЦЧ. *L. buriaticus* Peschkova по габитусу похож на *L. chinensis*, но «отличается шероховатой осью колоса, более или менее волосистыми (иногда очень слабо) НЦЧ, шероховатой от коротких шипиков осью колоса и каллусом, усаженным по бокам довольно длинными волосками» (Пешкова, 1985). Так, для *L. buriaticus* характерны рассеяно-волосистые, иногда почти голые

НЦЧ, ось колоска с негустыми короткими волосками и КЧ, короче НЦЧ (табл. 2). Наши исследования показали, что волосистость НЦЧ у *L. littoralis* даже на одном колосе иногда сильно варьирует от очень волосистых до редких волосков по всей поверхности. Как видно, признак опушенности НЦЧ является довольно изменчивым, поэтому не может быть использован для разграничения этих видов, как основной диагностический признак. В табл. 2 дана количественная характеристика морфологических признаков изученных видов.

Вычисление средних величин с их ошибками, а также стандартных отклонений и сравнения по отдельным признакам показало, что по отдельным признакам между видами имеются различия, однако сделать выводы на этом основании оказалось затруднительно. Для получения более объективной картины взаимного расположения видов был проведен факторный анализ по 15 признакам, который выявил различия между тремя видами (рис. 1). Первые два фактора объясняют 74.38 % общей дисперсии данных. Наибольшие нагрузки на первый фактор имеют: отношение длины нижней колосковой чешуи к длине нижней цветковой чешуи (0.92), количество волосков на 1 мм² (0.91), длина нижней и верхней колосковых чешуй (0.88 и 0.88), длина волосков нижней цветковой чешуи (0.87), количество колосков на уступе (0.74), длина ости нижней цветковой чешуи (0.72), высота растений (0.56). Для второго фактора имеют значение количество цветков в колоске (0.87), длина колоска (0.83), длина колоса (0.81), длина нижней и верхней цветковых чешуй (0.82 и 0.80) и высота растений (0.68).

В осях первого и второго факторов наблюдается хорошее разделение образцов всех трех видов. Облака *L. littoralis*, *L. buriaticus*, *L. chinensis* обособлены и практически не перекрываются. Кроме того, проведено исследование видов *L. littoralis*, *L. chinensis* и *L. buriaticus*, выращенных на экспериментальном участке ЦСБС СО РАН из семян природных растений или вегетативных побегов из природных популяций. При морфологическом изучении растений разных образцов были отмечены вариации морфологии, приближающие габитус либо к *L. littoralis*, либо к *L. chinensis*. Пыльники большинства растений были большей частью закрыты (рис. 2). При учете перекрестного опыления и высокой способности к образованию гибридов, присущей видам рода *Leymus*, мы должны были предположить гибридогенную природу *L. buriaticus*, о чем косвенно свидетельствует чрезвычайно низкая семенная фертильность растений этого вида. Для подтверждения этого предположения было проведено изучение полипептидных спектров запасных белков эндосперма при помощи SDS-электрофореза.

2. Анализ изменчивости по запасным белкам эндосперма

Ранее для уточнения таксономического статуса спорных видов, идентификации генотипов и индикации состояния популяций у видов рода *Leymus* мы использовали SDS-электрофорез запасных белков эндосперма (проламин-глутелиновый комплекс) (Липин, Агафонов, 2007; Липин и др., 2008; Badmayeva, Agafonov, 2005). Следует отметить малую массу сухих зерновок у видов *Leymus* из секций *Anisopyrum* и *Aphanoneuron*, варьирующую

Таблица 2

Морфологические признаки *Leymus buriaticus*, *L. chinensis*, *L. littoralis*

Признаки	<i>L. buriaticus</i> X ± m _x	<i>L. chinensis</i> X ± m _x	<i>L. littoralis</i> X ± m _x
	Среднее	Среднее	Среднее
Высота растений, см	54.35 ± 1.72	69.75 ± 2.35	102.95 ± 3.00
Длина колоса, см	8.17 ± 0.35	11.81 ± 0.57	14.00 ± 0.47
Длина колоска, см	1.18 ± 0.03	1.32 ± 0.05	1.57 ± 0.02
Количество цветков в колоске, шт.	4.55 ± 0.17	5.85 ± 0.30	6.20 ± 0.13
Длина НКЧ, мм	7.85 ± 0.20	6.80 ± 0.29	12.35 ± 0.22
Длина ВКЧ, мм	7.05 ± 0.19	5.85 ± 0.25	10.30 ± 0.28
Длина НЦЧ, мм	9.35 ± 0.17	10.05 ± 0.23	11.00 ± 0.18
Длина ВЦЧ, мм	7.60 ± 0.13	8.55 ± 0.17	8.95 ± 0.20
Длина ости НЦЧ, мм	1.13 ± 0.02	1.19 ± 0.07	1.99 ± 0.03
Ширина НЦЧ, мм	1.38 ± 0.03	1.46 ± 0.02	1.84 ± 0.03
Ширина основания НКЧ, мм	0.75 ± 0.22	0.60 ± 0.02	0.60 ± 0.02
Количество колосков на уступе, шт.	1.95 ± 0.05	1.95 ± 0.05	3.55 ± 0.14
Отношение L _{НКЧ} / L _{НЦЧ}	0.84 ± 0.02	0.67 ± 0.03	1.12 ± 0.02
Длина волосков НЦЧ, мм	0.46 ± 0.02	0	0.53 ± 0.01
Количество волосков на мм ² , шт.	29.10 ± 2.27	0	73.20 ± 3.69

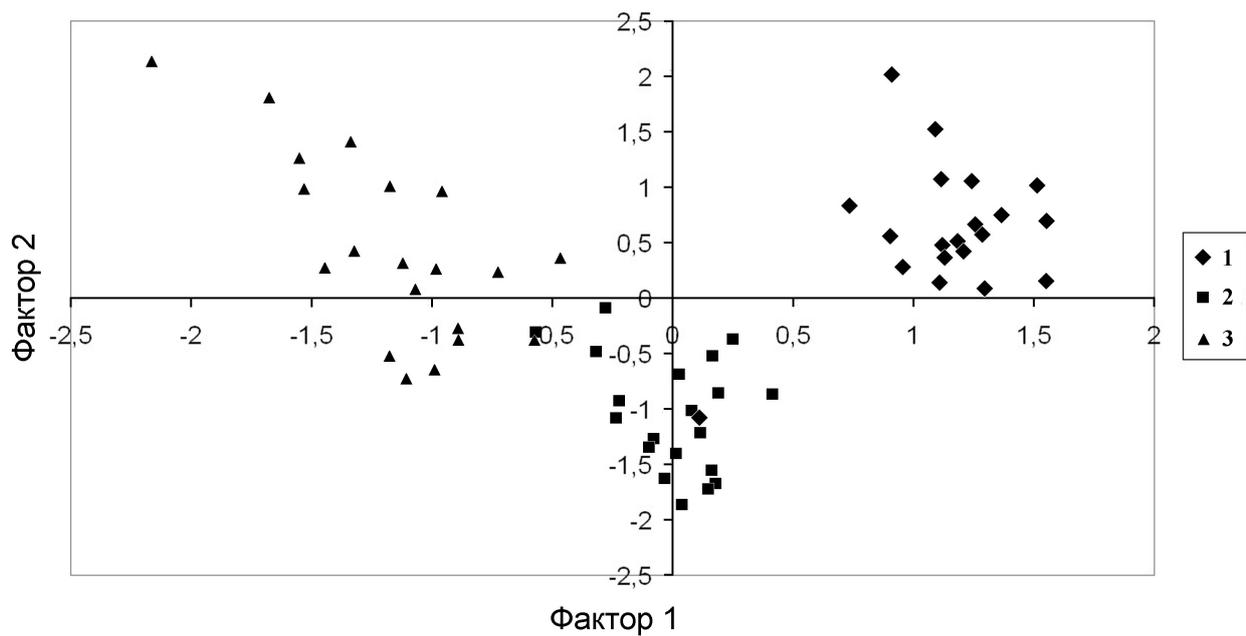


Рис. 1. Результаты факторного анализа по 15 признакам для 60 образцов *L. littoralis* (1), *L. buriaticus* (2) и *L. chinensis* (3)

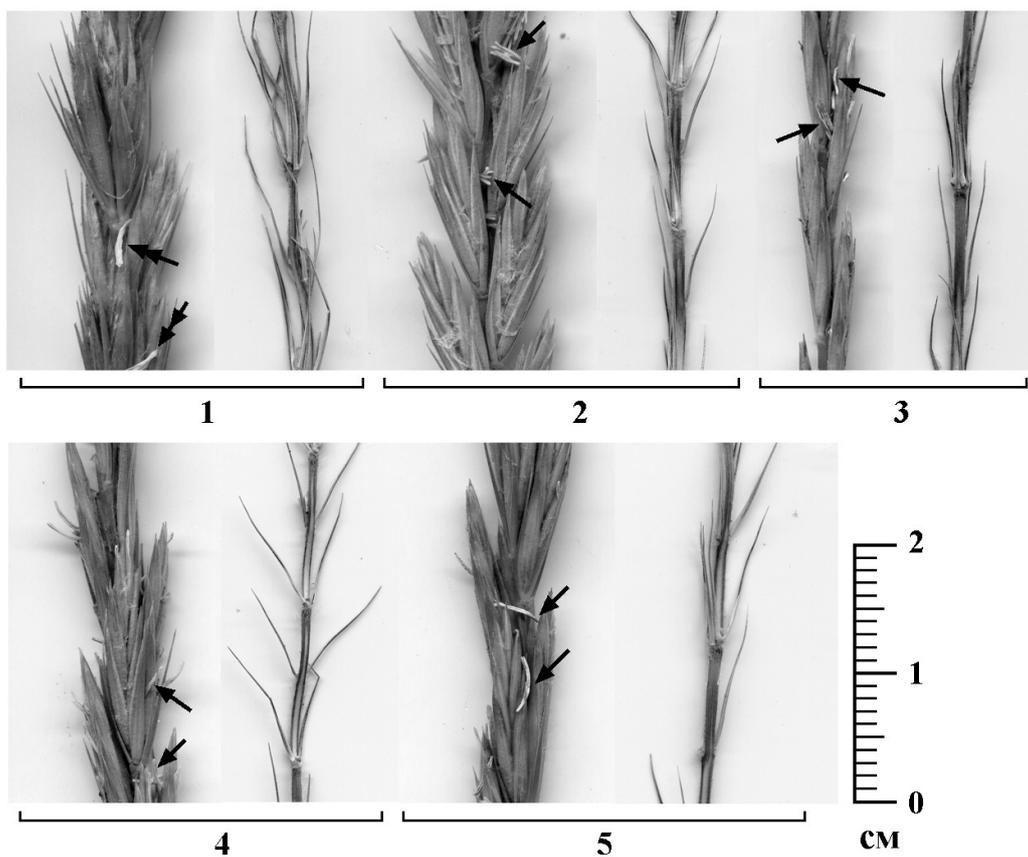


Рис. 2. Фрагменты разных по строению колосьев и их осей с колосковыми чешуями *L. buriaticus* популяции GUSL-0429. Представлены контрастные варианты строения. 1 – морфотип, близкий к *L. littoralis*, 5 – морфотип, близкий к *L. chinensis*, 2–4 – промежуточные формы. Одиночными стрелками показаны закрытые пыльники, двойными стрелками – открытые

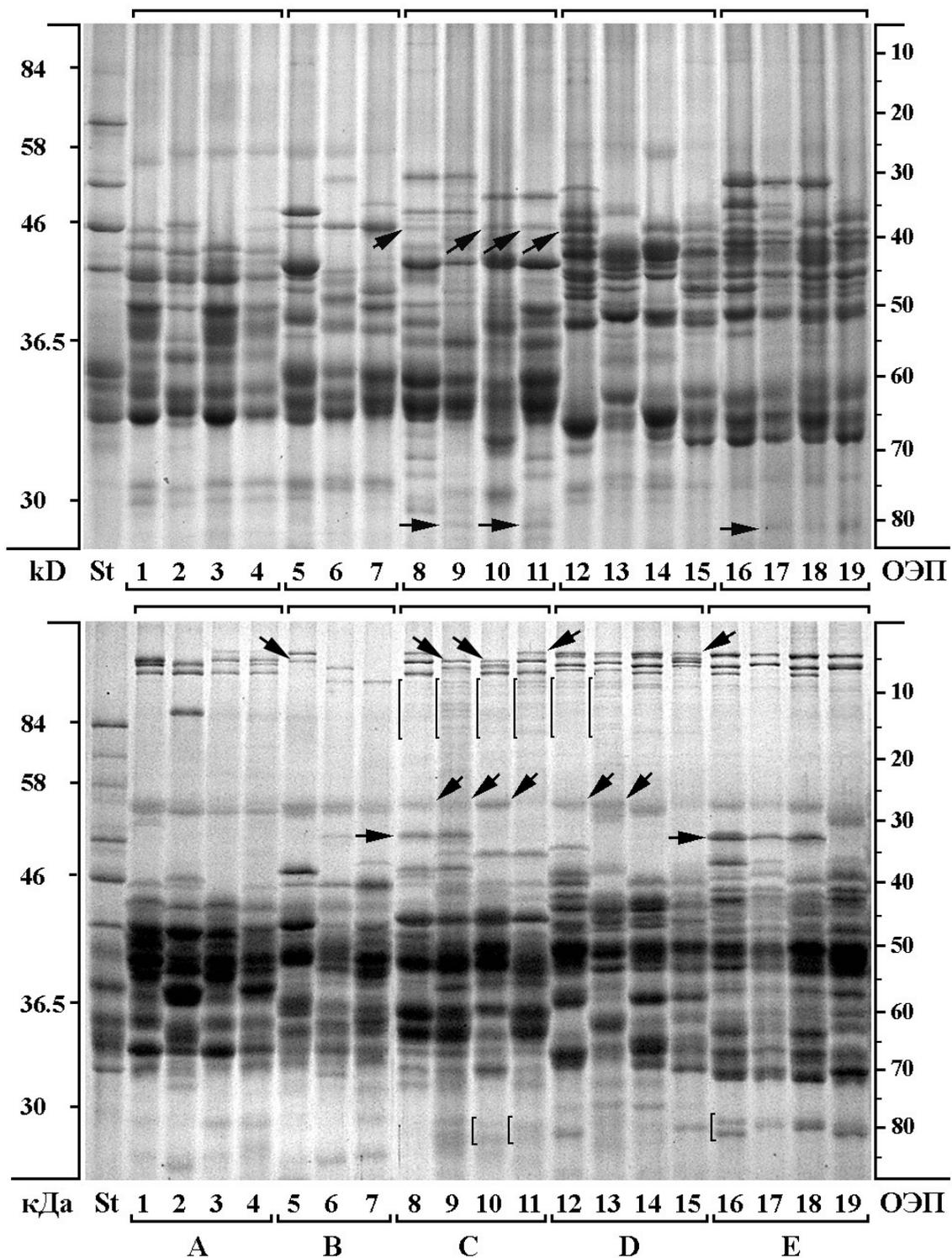


Рис. 3. SDS-электрофореграммы белков эндосперма гетерогенной популяции *L. burriaticus* GUSL-0429 (C) в сравнении с географически близкой (D) популяцией *L. littoralis* и удаленной популяцией (B) *L. chinensis*. Полипептидные спектры отдельных зерновок с разных растений в вариантах -Me (вверху) и +Me (внизу). A - *L. chinensis*. TURL-0515, B - *L. ordensis* ORDL-0430, C - *L. burriaticus* GUSL-0429, D - *L. littoralis* OROL-0417, E - *L. paboanus* SULL-0432; St - эталонный спектр линии ALT-8401 *Elymus sibiricus*; кДа - ориентировочная шкала молекулярных масс; ОЭП - шкала относительной электрофоретической подвижности

в пределах 1.0–2.0 мг, что частично компенсируется высоким содержанием белка. В данной работе нами были получены и проанализированы два типа белковых экстрактов изучаемых видов из отдельных зерновок.

На рис. 3 показана изменчивость полипептидных спектров зерновок с разных растений из гетерогенной популяции *L. buriaticus* в сравнении с географически близкой популяцией *L. littoralis* и удаленной популяцией *L. chinensis*, в электрофоретических вариантах –Me и +Me. В варианте –Me выявлен высокий уровень полиморфизма проламиновых компонентов (молекулярная масса 30–60 кДа) у всех изучаемых популяций. Как и в других опытах по электрофорезу белков у видов рода *Leymus*, инвариантные проламиновые полипептиды присутствуют в диапазоне ОЭП 25–37 ед. Полипептиды с молекулярными массами 28–35 кДа изменяли величину ОЭП, что указывало на присутствие у них внутренних S-S связей. В варианте +Me на гелях обнаружены дополнительные компоненты, которые, вероятнее всего, могут быть отнесены к субъединицам глютелина или агрегированного проламина.

Высокомолекулярные субъединицы (ВМС) у изученных видов отмечены в диапазоне 3–8 ед. ОЭП и обладали молекулярной массой около 110–130 кДа. Выявлена значительная изменчивость полипептидных спектров внутри каждой популяции. Это явление, обусловленное перекрестным типом опыления, существенно усложняет выполнение кластерного анализа, поэтому было проведено изучение качественных характеристик. Так, в варианте –Me у близко расположенных популяций *L. buriaticus* GUSL-0429 и *L. littoralis* OROL-0417 обнаружен общий инвариантный компонент проламина 32 ед. ОЭП (указаны стрелками). Тем не менее, наибольший полиморфизм по проламиновым белкам визуально отмечен в популяции *L. buriaticus* GUSL-0429. При этом каж-

дая популяция характеризовалась специфическим составом компонентов, что свидетельствует как о внутривидовом, так и внутрипопуляционном множественном аллелизме соответствующих генов. В варианте +Me также наиболее изменчивой являлась популяция *L. buriaticus* GUSL-0429.

Электрофореграммы показали большое сходство белковых спектров *L. chinensis* и *L. buriaticus*, что с учетом значительной внутривидовой изменчивости может косвенно свидетельствовать в пользу единой природы этих таксонов. В то же время, некоторые фракции совпадали с *L. littoralis*. Таким образом, наличие достаточно большого количества совпадений по компонентам спектров указывает на филогенетическую близость растений смешанной популяции. Возможность гибридного происхождения популяции *L. buriaticus* GUSL-0429 (классическое местообитание) от *L. littoralis* и *L. chinensis*, подтверждается совместным произрастанием видов в данном местообитании. Однако если учесть, что исследовались только экземпляры с некоторой семенной фертильностью, то данный способ исследования не подходит в случае стерильности таксона, не образующего семян и размножающегося исключительно вегетативным путем вследствие своей гибридогенной природы. Следовательно, не все экземпляры *L. buriaticus* могут быть исследованы методом SDS-электрофореза запасных белков эндосперма.

3. Анализ изменчивости по гистону H1

В целях дальнейшего поиска предковых форм *L. buriaticus* и выявления уровней полиморфизма мы применили метод анализа субфракционного состава гистона H1 имеющихся у нас живых образцов, предположительно гибридной природы. Было проведено электрофоретическое изучение изменчивости у образцов из популяций *L. buriaticus* GUSL-0429; *L. ordensis* ORDL-0430; *L. chinensis* (OLHL-0409, OLHL-0934,

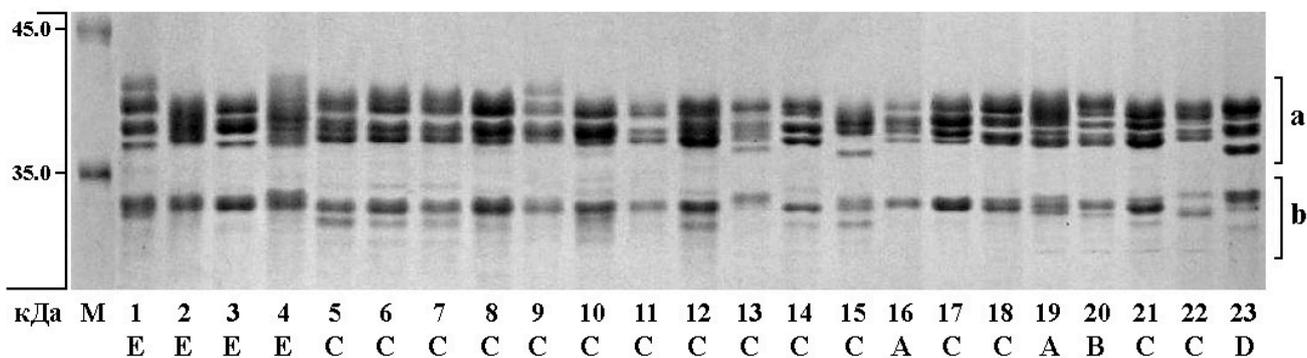


Рис. 4. Изменчивость гистона H1 у растений из популяций видов *Leymus*: (A) *L. buriaticus* (16, 19 – GUSL-0429); (B) *L. littoralis* (20 – GUSL-0431); (C) *L. chinensis* (5–7, 15, 21 – OLHL-0409; 8–10 – OLHL-0934; 11, 12 – TURL-0515; 13 – MONL-0501; 14 – HIML-0436; 16, 17 – OROL-0416; 22 – BSDL-0570); (E) *L. ordensis* (1–4 – ORDL-0430); (D) *L. ramosus* (23 – TSRL-0510)

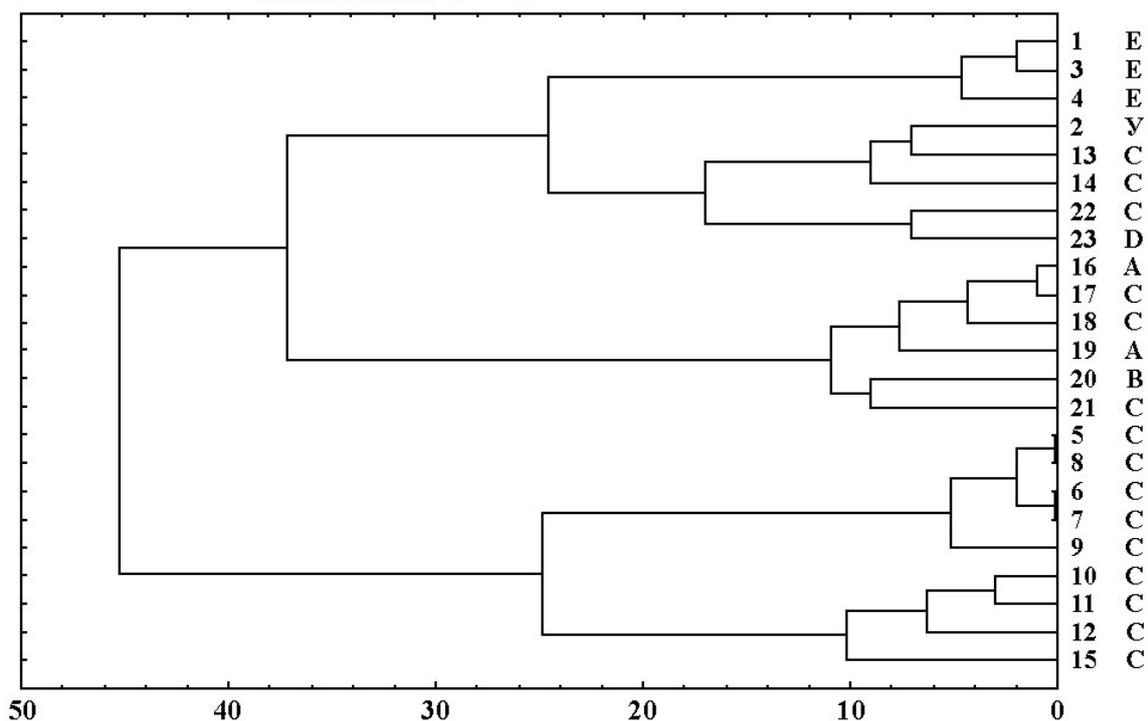


Рис. 5. Дендрограмма, построенная на основе данных по субфракционному составу гистона H1 по методу Уорда с использованием коэффициента Манхэттенское расстояние (Manhattan distance). Растения из популяций: (A) *L. buriaticus* (16, 19 – GUSL-0429), (B) *L. littoralis* (20 – GUSL-0431), (C) *L. chinensis* (5–7, 15, 21 – OLHL-0409; 8–10 – OLHL-0934; 11, 12 – TURL-0515; 13 – MONL-0501; 14 – HIML-0436; 16, 17, 18 – OROL-0416; 22 – BSDL-0570), (E) *L. ordensis* (1–4 – ORDL-0430); (D) *L. ramosus* (23 – TSRL-0510). Шкала показывает уровень различий

TURL-0515, MONL-0501, HIML-0436, OROL-0416, BSDL-0570); *L. littoralis* GUSL-0429 и *L. ramosus* TSRL-0510 из разных мест Южной Сибири. Установлена высокая неоднородность в спектрах гистона, которые содержали большое число неповторяющихся субфракций (рис. 4).

На основе полученных спектров построена схема распределения субфракций гистона H1 и составлена матрица присутствия-отсутствия каждой субфракции. Построена дендрограмма сходства изученных образцов (рис. 5). Изучение сходства видов с применением кластерного анализа показало наличие трех выраженных кластеров. Одну группу близких видов образуют популяции ORDL-0430 (условно *L. ordensis*) и *L. chinensis* из популяций MONL-0501, HIML- 0436, BSDL-0570, TSRL-0510. Здесь стоит отметить, что образцы *L. chinensis* из популяций BSDL-0570 и HIML- 0436 имели колоски с одним колоском на уступе, что характерно для *L. ramosus* из популяции TSRL-0510.

Вторая группа видов разнородна и состоит из *L. chinensis*, *L. littoralis* и *L. buriaticus* из классического места произрастания и наиболее близких по местообитанию популяций OROL-0516 и OROL-0417. Высокий уровень полиморфизма популяции

L. buriaticus GUSL-0429 может служить косвенным признаком ее гибридного происхождения. Кроме того часть субфракций гистона H1 совпадают с субфракциями популяций *L. chinensis* (OROL-0516 и OROL-0417) и *L. littoralis* GUSL-0431, что может служить доказательством происхождения *L. buriaticus* путем гибридизации *L. chinensis* и *L. littoralis*.

Третью группу кластера составил *L. chinensis* из популяций OLHL-0409, OLHL-0434 TURL-0515, у которых колосья имеют по два колоска на уступе. Для более полного выяснения родственных связей таксона были исследованы популяции *L. buriaticus* GUSL-0429 (классическое местонахождение); *L. littoralis* GUSL-0431, BILL-0439; *L. chinensis* OLHL-0409, OROL-0416; *L. littoralis* × *Elytrigia repens* GUSL-0429 (классическое местонахождение) и TERL-0564. Установлена высокая неоднородность в спектрах гистона, которые содержали большое число неповторяющихся субфракций (рис. 6). Наибольший полиморфизм субфракционного состава гистона H1 выявлен в популяции GUSL-0429. На основе полученных спектров также построена схема распределения субфракций гистона H1, составлена матрица и построена дендрограмма сходства изученных образцов (рис. 7).

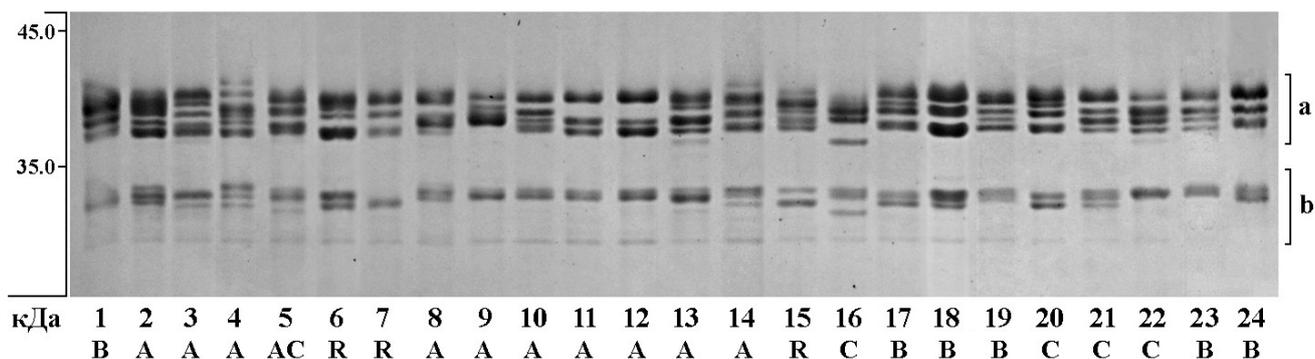


Рис. 6. Изменчивость гистона Н1 у растений из популяций: (А) — *L. buriaticus* GUSL-0429 из классического местонахождения (2–5 — природные особи; 8–14 — выращенные из семян природных особей); (В) — *L. littoralis* (1 — GUSL-0431; 17–19, 23–24 — BILL-0439); (С) — *L. chinensis* (16 — OLHL-0409; 20–22 — OROL-0416); (R) — *L. littoralis* × *Elytrigia repens* (6–7 — GUSL-0432; 15 — TERL-0564) из разных мест Южной Сибири

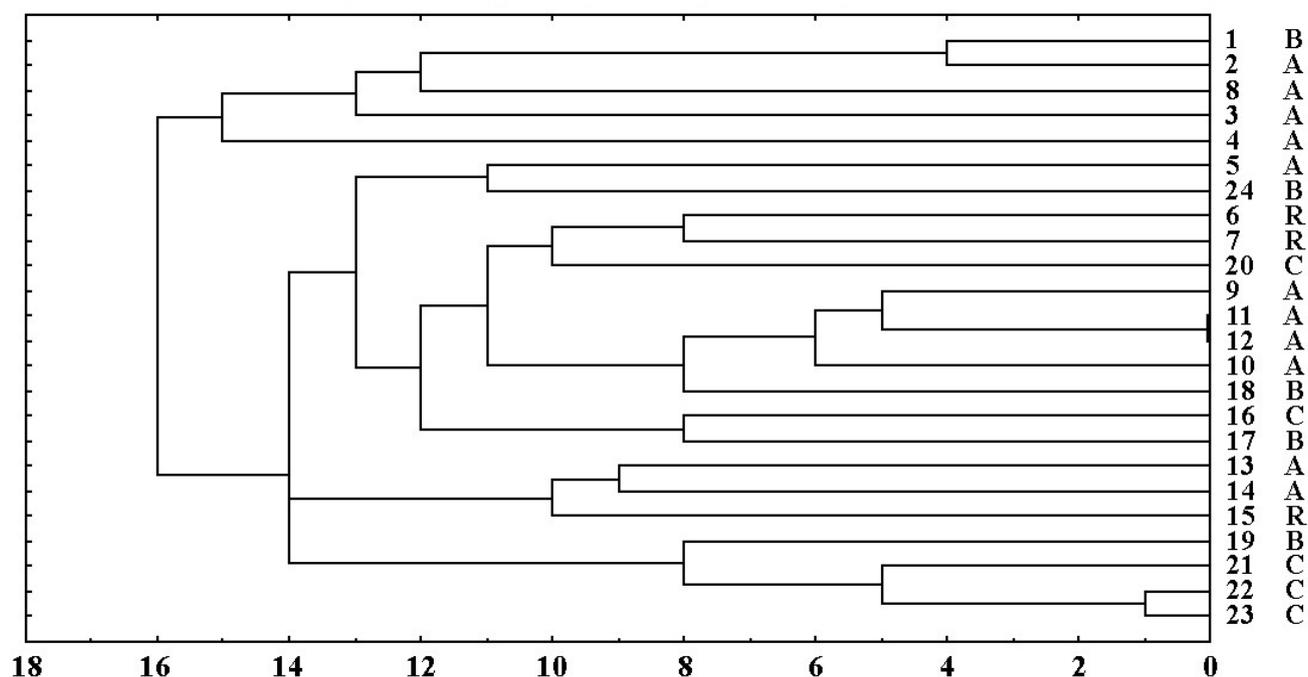


Рис. 7. Дендрограмма, построенная на основе данных по субфракционному составу гистона Н1 по методу полной связи (complete linkage) с использованием коэффициента Манхэттенское расстояние (Manhattan distance). Растения из популяций: (А) — *L. buriaticus* GUSL-0429 из классического местонахождения (2–5 — природные особи; 8–14 — GUSL-0429, выращенные из семян природных особей); (В) — *L. littoralis* (1 — GUSL-0431; 17–19, 23–24 — BILL-0439); (С) — *L. chinensis* (16 — OLHL-0409; 20–22 — OROL-0416); (R) — *L. littoralis* × *Elytrigia repens* (6–7 — GUSL-0432; 15 — TERL-0564). Шкала показывает уровень различий

Часть субфракций гистона Н1 популяции *L. buriaticus* GUSL-0429 совпадают с субфракциями популяций *L. littoralis* (GUSL-0431, BILL-0439), *L. chinensis* и *L. littoralis* × *Elytrigia repens* GUSL-0432, что может служить доказательством их близкого родства. Выявлено отсутствие строгой корреляции между видовой принадлежностью образцов и их субфракционным составом гистона Н1. При этом *L. littoralis* и *L. chinensis* из других популяций зачастую оказывались в одном кластере с *L. buriaticus*

GUSL-0429. И наоборот, растения из популяции *L. buriaticus* GUSL-0429 оказывались разнесены на максимальное расстояние. Данные факты служат доказательством гипотезы происхождения *L. buriaticus* путем гибридизации *L. chinensis* и *L. littoralis* с последующей рекомбинацией генетического материала, и, вероятнее всего, с участием разнородных генотипов при скрещиваниях в последующих поколениях.

Полученные результаты дают основание предполагать, что все популяции *L. buriaticus* произошли

путем гибридизации в местах совместного произрастания *L. chinensis* и *L. littoralis*, в том числе «locus classicus» — ст. Гусиное Озеро.

4. Варианты происхождения и филогенетическое положение *L. buriaticus*

Репродуктивной особенностью большинства представителей рода *Leymus* является сочетание интенсивного вегетативного (корневища) и семенного размножения на основе перекрестного опыления. В результате возможно образование достаточно отдаленных (межсекционных) гибридов, впоследствии образующих мощные клоны и занимающих определенные территории. По нашим наблюдениям, в большинстве совместно произрастающих природных популяций разных видов протекают процессы межвидовой гибридизации с последующими явлениями неупорядоченного перераспределения генетического материала между особями, т.е. явления генетической рекомбинации и межвидовой интрогрессии. Обычно, такие гибриды характеризуются пониженной фертильностью, частично возмещаемой интенсивным вегетативным размножением, а гибридное потомство тяготеет к увеличенному полиморфизму и расщеплению признаков. Малая фертильность и значительный полиморфизм также отмечены у выращиваемых на экспериментальном участке образцов *L. buriaticus*.

Г.А. Пешкова *L. chinensis* относит к восточно-азиатской хорологической группе с дауро-маньчжурским ареалом, а *L. littoralis* — к гемизндемичной группе, ареал которого ограничен Алтае-Саянской провинцией с прилегающей к ней территорией Северной Монголии (Пешкова, 2001). А.И. Малышев и Г.А. Пешкова (1984) вслед за Н.Н. Цвелевым (1968, 1976) считали *L. chinensis* центрально-азиатским ви-

дом. Ареалы *L. chinensis* и *L. littoralis* перекрываются, особенно в северной части. По всей вероятности, данная область являлась зоной гибридизации, в которой сформировалась особая раса с признаками обоих видов. При рассмотрении ареала *L. buriaticus* и его возможных предковых форм, было установлено, что точки нахождения *L. buriaticus* характеризуются также совместным произрастанием *L. littoralis* и *L. chinensis*. В целом, ареал *L. buriaticus* — это территория наложения ареалов *L. littoralis* и *L. chinensis*. Следует отметить, что автор вида предполагал гибридное происхождение *L. buriaticus* от *L. littoralis* и *L. chinensis* (Пешкова, 1985). Гибридизационные процессы имеют микроочаговые локализации только в местах совместного произрастания двух родительских видов, так как известно, что пыльца злаков имеет жизнеспособность несколько минут (Банникова, 1969) и, следовательно, не может распространяться на большие расстояния.

Таким образом, на основе полученных данных можно сделать вывод, что *L. buriaticus* представляет собой гибридную форму между *L. littoralis* и *L. chinensis*. Этот вывод подтверждается исследованиями полиморфизма запасных белков эндосперма и лизин-богатого гистона H1 в смешанной популяции между *L. buriaticus*, *L. littoralis* и *L. chinensis* из классического местообитания. В результате многократной гибридизации исходных видов *L. littoralis* и *L. chinensis* образовались популяции с большим числом уникальных рекомбинантных генотипов, сочетающих те или иные признаки. Часть из них, обладающие сходными морфологическими характеристиками, впоследствии были описаны как самостоятельный вид *L. buriaticus*.

ВЫВОДЫ

L. buriaticus занимает промежуточное положение между *L. littoralis* и *L. chinensis*. Выборка из популяции GUSL-0429, расположенной в классическом местонахождении *L. buriaticus*, имеет вариации морфологии, приближающие габитус либо к *L. littoralis*, либо к *L. chinensis*. Отмечено снижение семенной фертильности растений в популяции. Полипептидные спектры запасных белков эндосперма не подтверждают наличие явной генетической обособленности растений, определяемых как *L. buriaticus* (GUSL-0429) от относительно удаленных популяций *L. littoralis* и *L. chinensis*. Каждая популяция характеризовалась специфическим составом компонентов спектров, что свидетельствует о множественном аллелизме соответствующих генов.

Изучение спектров гистона H1 у образцов популяций *L. buriaticus* GUSL-0429 с *L. littoralis* и *L. chinensis*, как с классического местонахождения, так и более удаленных, позволило установить отсутствие выраженной видоспецифичности и высокую неоднородность субфракционного состава спектров, включающих большое число неповторяющихся субфракций. Более высокий полиморфизм гистона H1 выявлен у образцов, взятых из природной популяции GUSL-0429 (классическое местонахождение). Отмечено некоторое число совпадений *L. buriaticus* по субфракциям гистона H1 с *L. littoralis* и *L. chinensis*. Дендрограмма, построенная на основе схемы распределения субфракций, также показала отсутствие выраженной видоспецифичности

и высокую неоднородность популяции GUSL-0429. Образцы *L. buriaticus* и *L. littoralis* из природной популяции GUSL-04 (классическое местонахождение) оказались в одном кластере, что подтверждает их близкое генетическое родство.

На основе данных морфологического и электрофоретического анализов можно сделать вывод, что *L. buriaticus* представляет собой гибридную форму между *L. littoralis* и *L. chinensis*. Перекрестный тип опыления, характерный для видов *Leymus*, стал причиной возникновения гибридных особей.

Их дальнейшая репродукция внутри популяции, сопровождаемая процессами генетической рекомбинации и интрогрессии, вероятнее всего, обусловила появление большого числа морфологически отклоняющихся морфотипов. Некоторые из них, обладающие сходными морфологическими характеристиками, впоследствии были описаны как самостоятельный вид *L. buriaticus*.

Исследования проводились при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 04-04-48720, 08-04-00747.

ЛИТЕРАТУРА

- Агафонов А.В., Агафонова О.В. SDS-электрофорез белков эндосперма у представителей рода пырейник (*Elymus* L.) с различной геномной структурой // Сиб. биол. журн. 1992. Вып. 3. С. 7–12.
- Агафонов А.В., Баум Б.Р. Индивидуальная изменчивость и репродуктивные свойства половых гибридов внутри комплекса *Elymus trachycaulus* (*Poaceae: Triticeae*) и близких таксонов. 1. Полиморфизм запасных белков эндосперма у биотипов Северной Америки и Евразии // *Turczaninowia*. 2000. Т. 3. Вып. 1. С. 63–75.
- Банникова В.А. Прорастание и жизнеспособность пыльцы злаков // Вопросы антропоэкологии. Л., 1969. С. 11–12.
- Костина Е.В., Агафонов А.В. Изменчивость запасных белков и гистона H1 у *Elytrigia repens* по данным электрофореза // Бот. журн. 2002. Т. 87. № 3. С. 106–115.
- Липин А.С., Агафонов А.В. Отражение модификационной изменчивости в таксономии рода *Leymus* на примере *L. dasystachys* (Trin.) Pilger и *L. ovatus* (Trin.) Tzvel. // Сиб. ботан. вестник: электронный журнал <journal.csbg.ru>. 2007. № 2. Вып. 1. С. 27–34.
- Липин А.С., Бадмаева Н.К., Байков К.С., Агафонов А.В. О таксономическом статусе *Leymus ordensis* (*Poaceae*) по результатам морфологического анализа и SDS-электрофореза запасных белков эндосперма и гистона H1 // Растительный мир Азиатской России. 2008. № 1. С. 71–82.
- Мальшев Л.И., Пешкова Г.А. Особенности и генезис флоры Сибири (Предбайкалье и Забайкалье). Новосибирск, 1984. 265 с.
- Пешкова Г.А. Новые виды рода *Leymus* (*Poaceae*) из Сибири // Бот. журн. 1985. Т. 70. № 11. С. 1554–1557.
- Пешкова Г.А. *Leymus* Hochst. — Колосняк // Флора Сибири. Т. 2: *Poaceae* (*Graminaceae*). Новосибирск, 1990. С. 41–53.
- Пешкова Г.А. Флорогенетический анализ степной флоры гор Южной Сибири. Новосибирск, 2001. 192 с.
- Цвелев Н.Н. Злаки // Растения Центральной Азии. Л., 1968. 247 с.
- Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л., 1976. 788 с.
- Badmayeva N.K., Agafonov A.V. Electrophoretic variation of endosperm proteins and its use for taxonomy and biosystematics in the genus *Leymus* (*Poaceae*) // Czech J. Genet. Plant Breed. 2005 (Special Issue). Vol. 41. P. 86–90.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. № 5259. P. 680–685.