

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК [581.169:582.542.1]:58.084

DOI: 10.15372/RMAR20210401

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ЦЕНТРАЛЬНО-АЗИАТСКИМИ
МНОГОЛЕТНИМИ ЗЛАКАМИ *ELYMUS FEDTSCHENKOI*, *E. NEVSKII*
И *E. PRAERUPTUS* (POACEAE)**

Е.В. Шабанова, М.В. Емцева, А.В. Агафонов

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, Россия; eko-bozeva87@mail.ru, emtsevamv@yandex.ru, agalex@mail.ru

Elymus fedtschenkoi, *E. nevskii* и *E. praeruptus* – три морфологически схожих вида, традиционно причисляемых к “*Elymus semicostatus* group” (Salomon, 1993) и распространенных на открытых местообитаниях горных районов Центральной Азии, в том числе в российском Горном Алтае. Данные о нахождении *E. praeruptus* в пределах России к настоящему времени отсутствуют. В работе проведен подробный анализ синонимии и номенклатуры изучаемых видов. Анализ изменчивости запасных белков эндосперма у индивидуальных зерновок методом SDS-электрофореза показал следующее: а) каждый из трех видов обладает внутренним полиморфизмом, что дает возможность эффективно изучать меж- и внутривидовую специфичность даже с использованием нежизнеспособного материала; б) различия внутри образцов *E. fedtschenkoi* – *E. nevskii* сильнее выражены по мере географической отдаленности, чем в зависимости от формальной видовой принадлежности; в) образцы *E. praeruptus* из Гиссаро-Алая обладали уникальными наборами компонентов, а визуальное совпадение по величинам ОЭП с другими образцами, по нашему мнению, может носить случайный характер. Согласно выявленному полиморфизму ISSR-маркеров, *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* обладают отчетливым генетическим сходством, тогда как *E. praeruptus* заметно отдален от этой пары видов. Вероятно, биотипы с признаком “длинные ости нижних цветковых чешуй” (до 25 мм), причисляемые к *E. fedtschenkoi* s. str., вместе с биотипами с признаком “короткие ости нижних цветковых чешуй” (1–6 мм), которые относят к *E. nevskii* s. str., следует отнести к единому комплексу *E. nevskii* s. l.

Ключевые слова: неформальная группа “*Elymus semicostatus* group”, SDS-электрофорез, ISSR-маркеры.

Для цитирования: Е.В. Шабанова, М.В. Емцева, А.В. Агафонов. Филогенетические взаимоотношения между центрально-азиатскими многолетними злаками *Elymus fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* (Poaceae). *Раст. мир Азиатской России*. 2021;14(4):265–276. DOI 10.15372/RMAR20210401.

ВВЕДЕНИЕ

Elymus fedtschenkoi Tzvelev, *E. nevskii* Tzvelev и *E. praeruptus* Tzvelev – три морфологически схожих вида, традиционно причисляемых к “*Elymus semicostatus* group” (Salomon, 1993; Salomon, Lu, 1994), и распространенных на открытых местообитаниях горных районов Центральной Азии. Среди видов группы наиболее широко распространен *E. fedtschenkoi* – от Алтайских гор на севере через хребты Тянь-Шаня к северному Афганистану и Пакистану на юге. Он обитает на открытых каменистых склонах до верхнего горного пояса на высоте от 2000 до 4000 м над ур. м. На территории России найден в Республике Алтай. Колосья *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* обычно плотные и однобокие, колоски часто визуально расцениваются сдвоенными, из-за того что каждый второй промежуток между уступами резко укорочен.

Elymus nevskii найден в горах Тянь-Шаня, Гиссаро-Алая, а также южного Алтая в пределах Казахстана и Китая. Вид обитает преимущественно на открытых каменистых склонах в среднем горном поясе на высоте 2000–3000 м над ур. м. Главным диагностическим признаком для разделения *E. fedtschenkoi* (*Roegneria curvata* Nevski) и *E. nevskii* (*Roegneria ugamica* (Drob.) Nevski) является длина остей нижних цветковых чешуй (НЦЧ) – 10–25 и 2–7 мм соответственно (Невский, 1934, с. 608, 614). Местонахождение *E. nevskii* на территории России подтверждено авторами сбором идентифицированного гербарного и живого материала на Курайском хребте Республики Алтай в 2017 г. Эти образцы в настоящее время находятся на стадии изучения.

Elymus praeruptus морфологически отличается от *E. fedtschenkoi* более рыхлым колосом и более

узкими листовыми пластинками (не более 4 мм шириной). Кроме того, в диагнозе *E. praeruptus* (*Roegneria interrupta* Nevski) (Невский, 1934, с. 611) указан признак – хорошо выраженная центральная жилка на НЦЧ. Популяции *E. praeruptus* были найдены на Зеравшанском, Туркестанском, Дарвазском и Алайском хребтах Гиссаро-Алая, где вид произрастает на сухих горных склонах и каменистых осыпях, обычно на высоте от 2400 м над ур. м. и выше.

Геномная конституция *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* (StStYY, 2n = 4x = 28) была определена цитогенетически (Liu, Dewey, 1983; Salomon, 1993). Эти данные согласуются с наличием морфологического признака закругленных верхних цветковых чешуй (ВЦЧ), который характерен для видов StY-геномной группы (Salomon, Lu, 1992). Близкое родство трех вышеназванных видов подтверждается не только их морфологическим сходством, но и высокими числами бивалентов на клетку (10–12) в мейозе у межвидовых гибридов (Salomon, 1993). Тем не менее сведений о филогенетических отношениях между *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* пока совершенно недостаточно.

Номенклатура и синонимика изучаемых видов

Elymus nevskii был описан В.П. Дробовым (Drobov, 1925) с Западного Тянь-Шаня (р. Угам близ Ташкента) в составе рода *Agropyron* Gaertn. как *A. ugamicum* Drobov. Позднее С.А. Невский (1932) при подробном рассмотрении гербарного материала *A. ugamicum* нашел его соответствие с *A. dentatum* Hook. f. и включил эти виды вместе с некоторыми другими в группу *Subsecundae* Nevski. Позже С.А. Невский (1934) перевел *A. ugamicum* в род *Roegneria* C. Koch. В.П. Дробов (1941) перенес *R. ugamica* (Drobov.) Nevski в описанный им род *Semeiostachys* Drobov. Позднее Н.Н. Цвелев (1970) при переводе вида *S. ugamica* (Drobov.) Drobov. в род *Elymus* L. привел вид за новым названием *E. nevskii* Tzvelev, поскольку номенклатурная комбинация *E. ugamicus* Drobov. уже существовала. При этом Н.Н. Цвелев предположил, что *E. nevskii* очень близок к распространенному в западных Гималаях виду *E. dentatus* (Hook. f.) Tzvelev и, возможно, является его подвидом (Цвелев, 1970). Далее Н.Н. Цвелев (1973, 1976) свел *E. nevskii* до ранга подвида *E. dentatus* subsp. *ugamicus* (Drobov.) Tzvelev, но во “Флоре Сибири” (Пешкова, 1990; Peschkova, 1990) вид *E. nevskii* был восстановлен.

В сравнительно недавних публикациях самостоятельность вида была поддержана (Цвелев, Пробатова, 2010, 2019). Два вида *E. nevskii* и *E. den-*

tatus сходны между собой наличием плотных и однобоких колосьев и НЦЧ с широкими пленчатыми краями. Однако, согласно предположению о том, что форма ВЦЧ отражает тип геномной конституции (Salomon, Lu, 1992), *E. nevskii* имеет ВЦЧ, типичные для видов StY-геномной группы, тогда как *E. dentatus* является StH-геномным видом (Sun, Zhang, 2011), и эти два вида не могут принадлежать даже к общей секции. Следовательно, *E. nevskii* генетически отличается от *E. dentatus*, а внешнее сходство, вероятно, объясняется факторами конвергенции.

В 1925 г. В.П. Дробов описал вид *A. macrolepis* Drobov (Drobov, 1925). Но позднее С.А. Невский (1932) счел этот вид сборным и разделил его на два: *A. curvatum* Nevski и *A. interruptum* Nevski. Эти виды различались между собой опушением листа, размерами колосковых чешуй, наличием сизоватого налета на НЦЧ. Далее оба вида были переведены С.А. Невским (1934) в род *Roegneria* C. Koch. В.П. Дробов (1941) перенес *R. interrupta* (Nevski) Nevski также в род *Semeiostachys*. Н.Н. Цвелев (1968) восстановил видовое название “*macrolepis*”, но уже для рода *Elymus* L., оставив за *R. curvata* (Nevski) Nevski старое название *E. macrolepis* (Drobov.) Tzvelev. Позже *Semeiostachys interrupta* (Nevski) Drobov. был восстановлен Н.Н. Цвелевым (1972) в роде *Elymus* под новым названием *E. praeruptus* Tzvelev, тогда как *E. macrolepis* стал называться *E. fedtschenkoi* (Цвелев, 1973).

Цель данного исследования – прояснение филогенетических отношений между видами *Elymus fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* с помощью интеграции данных морфологических и эколого-географических исследований с результатами электрофоретического анализа белков эндосперма и полиморфизма межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами были изучены образцы *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* из гербарных фондов Санкт-Петербурга (LE), Новосибирска (NSK), Томска (ТК), Барнаула (ALTB). Также был изучен коллекционный материал из разных точек с хребтов Алтая (Россия, Казахстан и Китай), Тянь-Шаня (Киргизстан и Таджикистан), Гиндукуша (Пакистан) (табл. 1) и Гиссаро-Алая (Таджикистан) (рис. 1).

Морфология цветковых чешуй изучена с помощью стереомикроскопа Carl Zeiss SteREO Discovery V12 в ЦСБС СО РАН. Электрофоретический SDS-анализ (Laemmly, 1970) белков эндосперма проводили по модифицированному методу

Таблица 1

**Местонахождения образцов из природных популяций *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeeruptus*,
взятых в анализы SDS-PAGE и ISSR**

Locations of accessions from natural populations *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* and *E. praeeruptus*
taken for SDS-PAGE and ISSR analyses

Код образца	Местонахождение и автор сбора
<i>E. fedtschenkoi</i>	
AUK-9856	Респ. Алтай, Кош-Агачский р-н, пл. Уюк, alt. 2120 м, N 49°34.20', E 87°57.80' (А. Агафонов)
GAS-8844	Респ. Алтай, Усть-Коксинский р-н, хр. Катунский, дол. р. Сакалсу (И. Артемов)
GUK-9812	Респ. Алтай, Усть-Коксинский р-н, хр. Катунский, дол. р. Катунь у устья р. Тургунда (И. Артемов)
H*7507, H7510	КНР, пров. Хинjiang, Китайский Алтай, окр. пос. Nabahe, лесной склон, alt. 1350 м (Yang, 1986.09.04)
H3523 (CHA-8745)	Киргизстан, хр. Чандалаш, окр. пос. Ортотерек, дол. р. Чаткал, alt. 2890 м, N 42°3.493', E 71°29.753' (А. Агафонов, О. Агафонова)
CUR-8846	Киргизстан, хр. Терсей-Алагоо, горы Курбу, окр. пос. Каджи-Сай, alt. 2300 м, N 42°7.20', E 77°10.18' (А. Агафонов, О. Агафонова)
KAS-8545	Казахстан, хр. Заилийский Алатау, окр. пос. Каскелен, alt. 2430 м, N 43°1.03', E 76°32.82' (А. Агафонов, О. Агафонова)
KSA-0935	Казахстан, хр. Южный Алтай, зап. макросклон, alt. 1791 м, N 49°05.077', E 86°04.483' (Д. Герус)
KAZ-0105, KAZ-0107	Казахстан, хр. Южный Алтай, пер. Алаатайский, alt. 1617 м, N 48°56.50', E 86°4.49' (Е. Костина)
H4119	Пакистан, хр. Гиндукуш, Swat District, луг у трассы Mahodan Rd, alt. 3280 м
<i>E. nevskii</i>	
H10213	Таджикистан, Гиссарский хр., берег Малого ручья, alt. 2950 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10215	Таджикистан, Гиссарский хр., берег Большого ручья, alt. 3000 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10216	Таджикистан, Гиссарский хр., южнее пер. Анзоб, alt. 3050 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10223	Таджикистан, Гиссарский хр., севернее пер. Анзоб, alt. 2550 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10271 H10278	Таджикистан, Зеравшанский хр., Маргузор, 7-е озеро, alt. 2400–2800 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10293 H10295 H10295a	Таджикистан, Гиссарский хр., пер. Устюр, alt. 2700–3100 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H3522 (CHA-8764)	Киргизстан, хр. Чандалаш, окр. пос. Ортотерек, alt. 2600 м, N 42°3.32', E 71°28.27' (А. Агафонов, О. Агафонова)
KSA-0938	Казахстан, хр. Южный Алтай, зап. макросклон, alt. 1791 м, N 49°05.077', E 86°04.483' (Д. Герус)
KAZ-0103, KAZ-0108	Казахстан, хр. Южный Алтай, пер. Алаатайский, alt. 1617 м, N 48°56.50', E 86°4.49' (Е. Костина)
<i>E. praeeruptus</i>	
H10218	Таджикистан, Гиссарский хр., севернее пер. Анзоб, alt. 2550 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10219	Таджикистан, Гиссарский хр., пер. Анзоб, alt. 3370 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10285	Таджикистан, Туркестанский хр., пер. Сахристан, alt. 3400 м (B. Salomon, B.-R. Lu)
H10251	Таджикистан, Гиссарский хр., юго-зап. оз. Искандеркуль, alt. 2600 м
H10287	Таджикистан, Туркестанский хр., южный макросклон, трасса М34, alt. 1900 м
H3283	Таджикистан, Ботанический сад г. Душанбе (D.R. Dewey, 1988)
<i>E. gmelinii</i>	
KSA-0954	Казахстан, хр. Южный Алтай, зап. макросклон, alt. 1704 м, N 49°4.864', E 86°4.334' (Д. Герус)
ART-0951	Казахстан, дол. р. Бухтарма, alt. 1543 м, N 49°12.750', E 86°50.953' (И. Артемов)
<i>E. pendulinus</i>	
CHE-1023	Респ. Алтай, Чемальский р-н, окр. пос. Чемал, alt. 434 м, N 51°23.533', E 86°00.197' (Е. Кобозева)

* Номерные образцы с обозначением H получены из коллекции Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Dept. of Plant Breeding P.O. Box 101 SE-23053 Alnarp, Sweden.

* Numbered samples designated H have been obtained from the collection of the Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Dept. of Plant Breeding P.O. Box 101 SE-23053 Alnarp, Sweden.

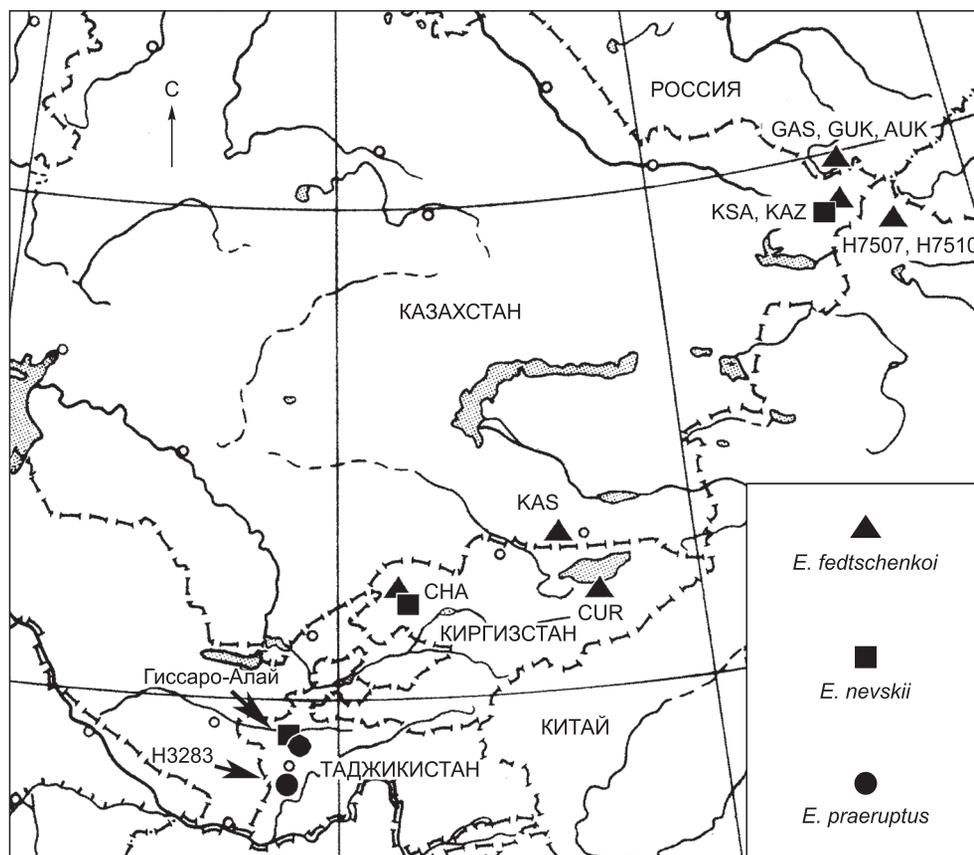


Рис. 1. Карта мест сбора образцов *Elymus nevskii*, *E. fedtschenkoi* и *E. praeruptus*.

Fig. 1. Map of sampling sites for *Elymus nevskii*, *E. fedtschenkoi*, and *E. praeruptus*.

(Агафонов, Агафонова, 1992). Дендрограмма по полипептидным профилям построена методом UPGMA (Sneath, Sokal, 1973) с помощью программы TREECON (version 1.3b) (Van de Peer, Wachter, 1994).

Для маркирования межмикросателлитных последовательностей (inter simple sequence repeats, ISSR) (Zietkiewicz et al., 1994), кроме образцов *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus*, в качестве реперных были взяты образцы видов *E. pendulinus* и *E. gmelinii* секции *Goulardia* (Husn.) Tzvelev. Использовали шесть праймеров, ранее успешно примененных для маркирования видов рода *Elymus*: 17899B, 814, M2, M11, HВ14 и HВ12. Анализ полиморфизма проведен по стандартной методике, описанной ранее (Кобозева и др., 2015). Для статистической обработки данных также применяли пакет программ TREECON, генетические дистанции рассчитывали согласно M. Nei & W. Li (1979). Для построения дендрограмм применяли метод Neighbor-Joining (NJ) с бутстреп-поддержкой 100 псевдореплик (Saitou, Nei, 1987).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическая дифференциация видов “*Elymus semicostatus* group”

Ранее было высказано предположение, что существуют короткоостые формы *E. fedtschenkoi*, которые очень трудно отличить от особей *E. nevskii* (Salomon, 1994). Более того, коллекционные образцы, определенные как “*E. nevskii*”, могут представлять собой образцы нетипичного *E. nevskii*, безостые формы *E. fedtschenkoi*, безостые экземпляры *E. abolinii* с более плотными колосьями и с широкими пленчатыми колосковыми чешуями, а также смесь возможных межвидовых гибридов. Однако, по мнению автора, эти отклоняющиеся формы вполне отличимы от экземпляров *E. nevskii* s. str., так как обладают более длинными колосьями и заостренными КЧ с менее широкими пленчатыми краями. Очевидно, что геномы *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* очень близко связаны, но конкретные образцы, взятые в гибридизацию, отличались по структуре хромосомы, несущей транслокацию. Можно предположить, что *E. nevskii* несет аллель,

контролирующий признак резко укороченных остей НЦЧ, а по всем другим генетическим характеристикам соответствует *E. fedtschenkoi*, т. е. может представлять собой короткоостую разновидность последнего. Тогда с таксономической точки зрения приоритетным из двух видов следует рассматривать *E. nevskii* (= *Agropyron ugamicum* Drob.).

Вероятно, популяции из северного Тянь-Шаня и Алтайских гор не только морфологически отличаются от популяций из Гиссаро-Алая и Пакистана, но и как разные географические расы двух видов, могут иметь парафилетическое происхождение по отношению друг к другу или к другим видам StY-геномной группы (Salomon, 1994). По нашим наблюдениям, даже в условиях культуры гиссаро-алайские биотипы имеют габитуальные особенности, отличающие их от более крупных особей из Тянь-Шаня.

Необходимо отметить, что С.А. Невский (1934) поместил *E. fedtschenkoi* в ряд *Curvatae* Nevski вместе с *E. gmelinii* (Ledeb.) Tzvelev, поскольку для этих видов характерны более или менее одно-сторонние и часто фиолетовые колосья, большие колосковые чешуи, длинные и загнутые ости НЦЧ. Однако фиолетовый цвет колосьев и длинные, загнутые ости являются признаками, найденными у многих видов рода. Кроме того, более детальное изучение колосковых чешуй (КЧ) показывает, что они структурно различны. КЧ у *E. fedtschenkoi* являются широко ланцетовидными с широкими

пленчатыми краями к верхушке, тогда как у *E. gmelinii* они узко ланцетовидные без или с узкими пленчатыми краями и не расширяющиеся к верхушке. Исходя из этих различий было сделано заключение, что *E. fedtschenkoi* не является близкородственным с *E. gmelinii* (Salomon, 1994).

Elymus praeruptus морфологически является промежуточным между *E. fedtschenkoi* и видами рода *Pseudoroegneria* (Nevski) Löve. Вид значительно напоминает *E. fedtschenkoi* по структуре и деталям колосьев, тогда как вегетативные органы более сходны с видами *Pseudoroegneria*. Важные отличия от представителей *Pseudoroegneria* заключаются в том, что растения *E. praeruptus* имеют более мелкие пыльники, преимущественное самоопыление как форму размножения и StY-геномную конституцию (Salomon, 1993). По геномной конституции виды рода *Pseudoroegneria* – S-геномные диплоиды, SS-геномные автотетраплоиды или сегментальные S₁S₂-геномные аллотетраплоиды (Dewey, 1984).

×*Elymus macrolepis* (Drob.) Tzvelev, как полагают, является гибридом между *E. fedtschenkoi* и *E. praeruptus* (Цвелев, 1968). В Шведском Аграрном Университете был создан искусственный гибрид *E. praeruptus* × *E. fedtschenkoi* (Salomon, 1993), который показал заметно более низкий уровень хромосомного спаривания, чем у гибрида *E. fedtschenkoi* × *E. nevskii*. Это может указывать на то, что *E. praeruptus* филогенетически более отдален от видовой пары *E. fedtschenkoi* – *E. nevskii*.

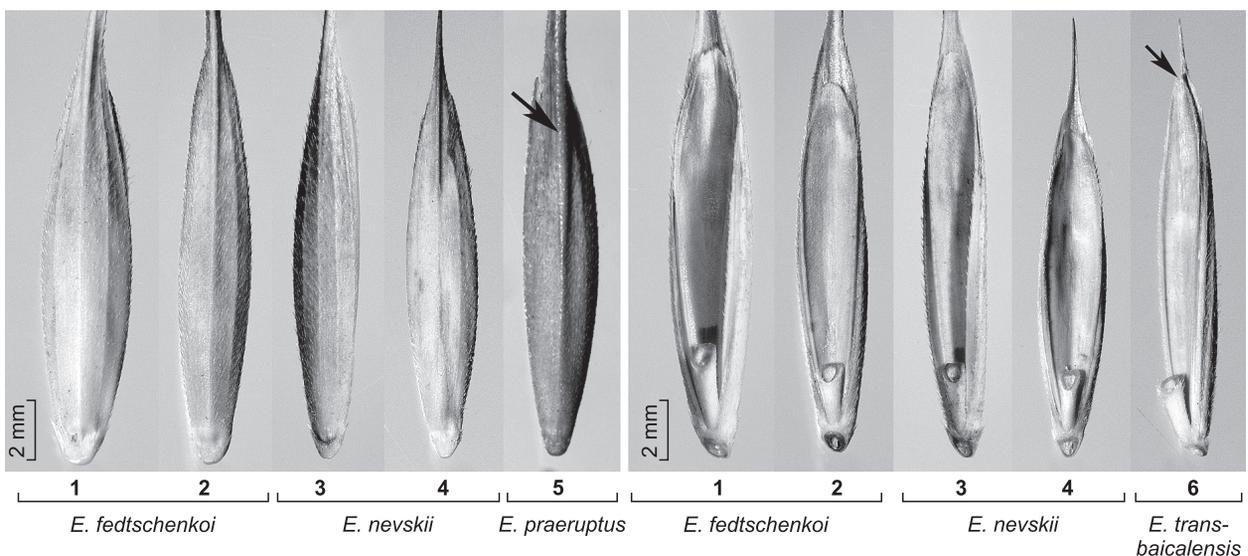


Рис. 2. Семена разных образцов со стороны НЦЧ (слева) и ВЦЧ (справа) видов *E. fedtschenkoi* (1, 2), *E. nevskii* (3, 4), *E. praeruptus* (5), *E. transbaicalensis* (6): 1 – GAS-8844, 2 – KSA-0935, 3 – CHA-8764, 4 – KSA-0938, 5 – H10285, 6 – гербарий NSK.

Fig. 2. Seeds of different accessions from the side of lemmas (left) and paleas (right) in *E. fedtschenkoi* (1, 2), *E. nevskii* (3, 4), *E. praeruptus* (5), *E. transbaicalensis* (6): 1 – GAS-8844, 2 – KSA-0935, 3 – CHA-8764, 4 – KSA-0938, 5 – H10285, 6 – Herbarium NSK.

Однако по признаку опушения НЦЧ, являющимся диагностическим для большинства видов StY-геномной группы, и по форме ВЦЧ у видов *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* обнаружено большое сходство (рис. 2), тогда как по длине остей отмечена изменчивость. В гербариях разных учреждений были найдены промежуточные формы, длина остей которых составляет 6–10 мм.

Кроме того, было подтверждено предположение, что гербарный образец, определенный как *E. nevskii* из Республики Алтай (Кош-Агачский р-н, хр. Курайский, ущ. Туерык, 03.07.1982. Собр. В.М. Доронькин, NSK), на который ранее ссылалась Г.А. Пешкова (1985, 1990) при указании местонахождения *E. nevskii* на территории российского Горного Алтая, не принадлежит этому виду и идентифицирован нами как *E. transbaicalensis* (см. рис. 2–6). Тем не менее в гербарии LE хранятся два экземпляра из Восточного Алтая, морфологически близкие к *E. nevskii*.

Анализ изменчивости запасных белков эндосперма

Семенной материал *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* из разных точек ареала был электрофоретически проанализирован в сравнении с двумя образцами *E. praeruptus* из Гиссарского и Туркестанского хребтов Гиссаро-Алая. Результаты одного из опытов показаны на рис. 3. Анализ электрофоретических профилей и построенной дендрограммы UPGMA (см. рис. 4) позволил сделать следующие выводы.

1. Все три вида обладают внутренним полиморфизмом по компонентному составу белков эндосперма, что дает возможность изучать меж- и внутрипопуляционную изменчивость и специфичность даже с использованием нежизнеспособного материала.

2. Белковые спектры образцов *E. nevskii* из хребтов Гиссаро-Алая показали варибельность в зоне 47–67 ед. по шкале ОЭП. При этом спектры

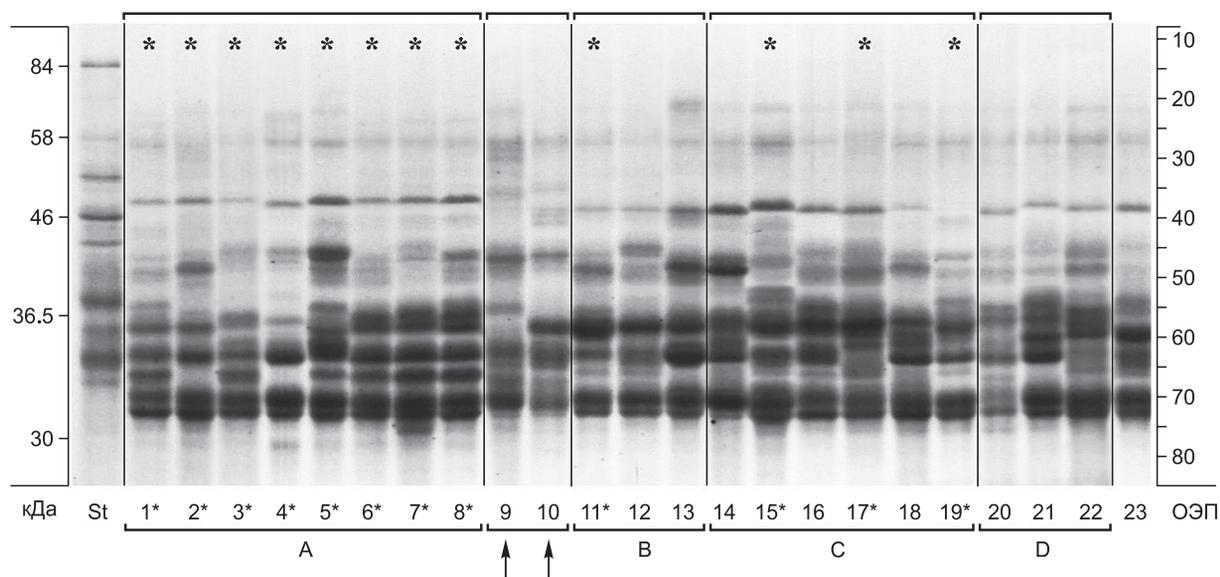


Рис. 3. SDS-электрофорез белков эндосперма выборочных образцов *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus* из Гиссаро-Алая (A), Тянь-Шаня (B), казахстанского (Рудного) Алтая (C), российского Горного Алтая (D) и китайского Алтая (23). Полипептидные спектры отдельных семян в варианте + Me. St – эталонный спектр линии *E. sibiricus* ALT-8401. Образцы *E. nevskii* отмечены звездочками, стрелки указывают два образца *E. praeruptus*.

1. H10213; 2. H10215; 3. H10216; 4. H10223; 5. H10271; 6. H10278; 7. H10293; 8. H10295; 9. H10285; 10. H10219; 11. CHA-8764; 12. CUR-8846; 13. KAS-8545; 14. KSA-0935; 15. KSA-0938; 16. KAZ-0107; 17. KAZ-0108; 18. KAZ-0105; 19. KAZ-0103; 20. AUK-9856; 21. GAS-8844; 22. GUK-9812; 23. H7510.

Fig. 3. SDS-PAGE of endosperm proteins of selected accessions *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii*, and *E. praeruptus* from Gissar-Alai (A), Tien Shan (B), Kazakhstan (Rudny) Altai (C), Russian Gorny Altai (D), and Chinese Altai (23). Polypeptide spectra of individual seeds in the + Me variant. St – reference spectrum of the line *E. sibiricus* ALT-8401. Accessions *E. nevskii* are marked with asterisks, arrows indicate two accessions *E. praeruptus*.

1. H10213; 2. H10215; 3. H10216; 4. H10223; 5. H10271; 6. H10278; 7. H10293; 8. H10295; 9. H10285; 10. H10219; 11. CHA-8764; 12. CUR-8846; 13. KAS-8545; 14. KSA-0935; 15. KSA-0938; 16. KAZ-0107; 17. KAZ-0108; 18. KAZ-0105; 19. KAZ-0103; 20. AUK-9856; 21. GAS-8844; 22. GUK-9812; 23. H7510.

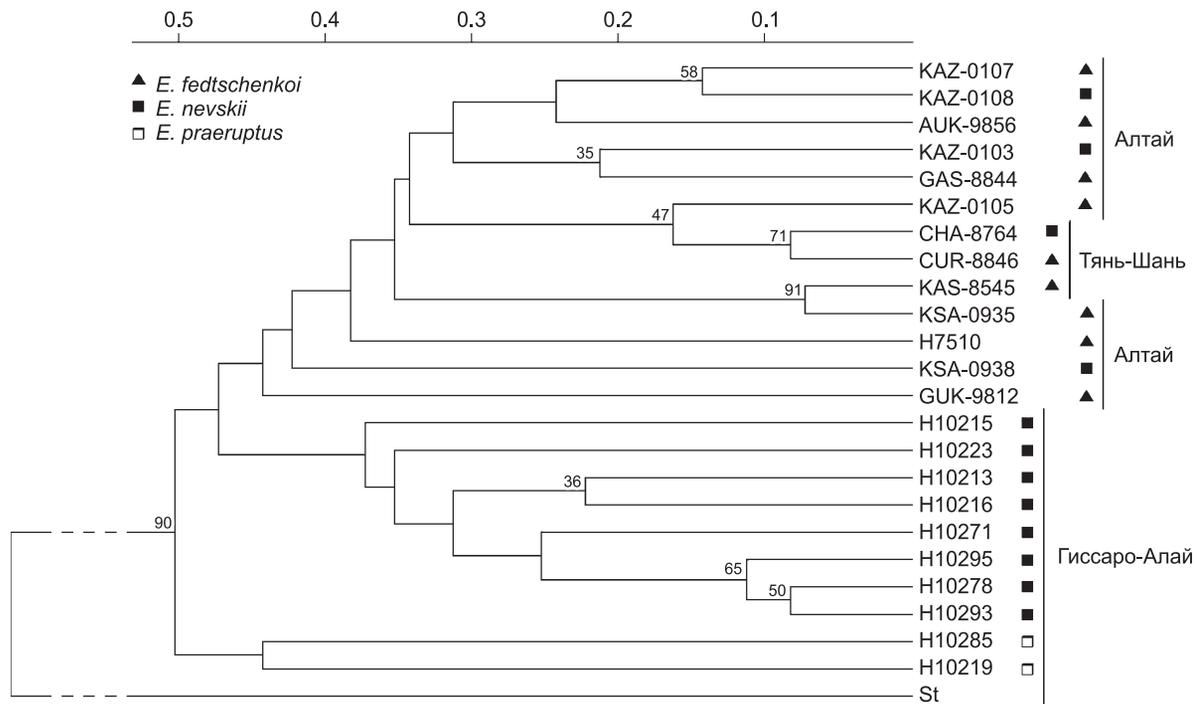


Рис. 4. Дендрограмма, построенная по методу UPGMA на основе полипептидных SDS-профилей образцов *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus*. Показаны значения бутстрепа больше 30.

Fig. 4. Dendrogram built by the UPGMA method based on polypeptide SDS profiles of accessions *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* and *E. praeruptus*. Bootstrap values greater than 30 are shown.

образцов № 2 и 4 в целом отличались от остальных *E. nevskii*, но были похожи между собой. Среди этой группы нет полностью идентичных, но при этом наибольшее совпадение по компонентному составу проламинов и субъединиц глютелина отмечено в зонах 36, 66 и 70–72 ед. ОЭП. Два последних компонента являются наиболее специфичными для видов *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* в целом.

3. У образцов *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* спектры не идентичны, но имеют сходство по группам белков в определенных зонах, в основном в местах совместного произрастания. По совпадению компонентов спектра наиболее близки биотипы *E. fedtschenkoi* CUR-8846 и *E. nevskii* CHA-8764 из разных хребтов Тянь-Шаня (В-11, В-12) (см. рис. 3), что косвенно подтверждает предположение о менделевском типе наследования различительного признака длины остей НЦЧ в этой части ареала.

4. Высокая изменчивость характерна для образцов двух видов из Рудного Алтая Казахстана, где также наибольшее сходство отмечено для образцов *E. fedtschenkoi* KAZ-0107 – *E. nevskii* KAZ-0108 и *E. fedtschenkoi* KAZ-0105 – *E. nevskii* KAZ-0103 из мест совместного произрастания (С-16, С-17 и С-18, С-19 соответственно). Выборка образцов *E. fedtschenkoi* из Республики Алтай обла-

дала высокой гетерогенностью, но в некоторых зонах ОЭП показала совпадение с образцами разных видов из Рудного Алтая Казахстана.

5. Один из образцов *E. fedtschenkoi* GUK-9812 с плоскогорья Укок Республики Алтай проявил наибольшее сходство с образцом этого вида H7510 из китайского Алтая (D-22 и 23).

6. В целом, различия среди образцов *E. fedtschenkoi* – *E. nevskii* более выражены по мере географической отдаленности, чем в зависимости от формальной видовой принадлежности.

7. Два образца *E. praeruptus* с разных хребтов Гиссаро-Алая обладали совершенно уникальными наборами компонентов, а визуальное совпадение по величинам ОЭП с другими образцами, по нашему мнению, может носить случайный характер.

Учитывая выявленную изменчивость по белкам эндосперма, можно предположить, что биотипы *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* в разных точках ареала находятся на разных стадиях микроэволюционной дивергенции. В частности, биотипы, несущие аллели, контролирующие признак длинных остей НЦЧ (до 25 мм), причисляются к *E. fedtschenkoi*, а содержащие совокупность аллелей, контролирующих укороченные ости (менее 8 мм), классифицируются как *E. nevskii*.

**Взаимоотношения видов,
выявляемые методом ISSR-PCR**

В результате ПЦР амплификации с 6 праймерами было получено 336 бэндов, варьирующих в диапазоне от 200 до 2000 п.н. (табл. 2).

Бэнды были на 100 % полиморфны. Наибольшее количество ISSR-фрагментов (91) было получено при использовании праймера 17899B. Наименее изменчивые профили были получены при использовании праймера M11 – 43 ампликона. Результаты амплификации с праймером HB14 представлены на рис. 5.

На основе данных полиморфизма ISSR-PCR спектров были построены консенсусные дендрограммы NJ и UPGMA, прояснившие взаимоотношения между видами *E. fedtschenkoi*, *E. nevskii* и *E. praeruptus*. Принципиальных различий между двумя методами построения не обнаружено. Главное отличие заключалось в том, что при построении по методу UPGMA три образца (два *E. gmelinii* и один *E. pendulinus*) расположились между двумя крупными кладами (одна образована *E. praeruptus*, другая – перемешанными образцами *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii*). На дендрограмме по

Таблица 2

Характеристика праймеров, использованных для изучения полиморфизма по ISSR-маркерам
Characteristics of primers used to study polymorphism for ISSR markers

Нуклеотидная последовательность 5–3'	Наименование праймера	Ta, °C	Общее число амплифицируемых фрагментов	Размер фрагментов ДНК, п.н.
(CA) ₈ GG	17899B	47	91	250–2000
(CT) ₈ TG	814	51	52	250–1500
(AC) ₈ YG*	M2	56	47	250–1500
(CA) ₆ R**	M11	39	43	200–1000
(CTC) ₃ GC	HB14	41	45	250–1800
(CAC) ₃ GC	HB12	42	58	250–1000

*Y = C или T; **R = G или A.

*Y = C or T; **R = G or A.

методу NJ (см. рис. 6) сначала с большой достоверностью отделились два образца *E. gmelinii*, в то время как образец *E. pendulinus* был взят в качестве out-group. Далее с высоким уровнем поддерж-

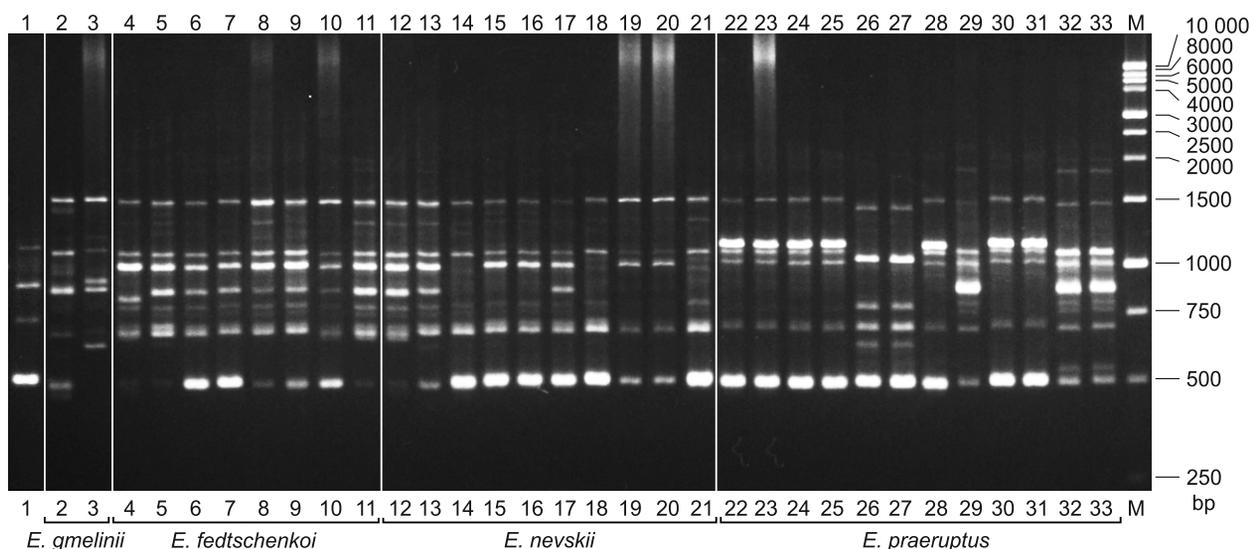


Рис. 5. ISSR-вариабельность при использовании праймера HB14 у образцов *E. pendulinus* (1), *E. gmelinii* (2–3), *E. fedtschenkoi* (4–11), *E. nevskii* (12–21) и *E. praeruptus* (22–33).

1. CHE-1023; 2. KSA-0954; 3. ART-0951; 4. KSA-0935; 5. H4119; 6. H7507-1; 7. H7507-2; 8. H3523-1; 9. H3523-2; 10. H7510-1; 11. H7510-2; 12. KSA-0938; 13. H3522; 14. H10213; 15. H10215; 16. H 10215; 17. H10223; 18. H10293; 19. H10293; 20. H10295a; 21. H10295a; 22. H10218; 23. H 10218; 24. H10285; 25. H10285; 26. H3283-1; 27. H3283-2; 28. H10218; 29. H10251; 30. H10285; 31. H10285; 32. H10287; 33. H10287.

Fig. 5. ISSR-variation when using the HB14 primer in accessions *E. pendulinus* (1), *E. gmelinii* (2–3), *E. fedtschenkoi* (4–11), *E. nevskii* (12–21) and *E. praeruptus* (22–33).

1. CHE-1023; 2. KSA-0954; 3. ART-0951; 4. KSA-0935; 5. H4119; 6. H7507-1; 7. H7507-2; 8. H3523-1; 9. H3523-2; 10. H7510-1; 11. H7510-2; 12. KSA-0938; 13. H3522; 14. H10213; 15. H10215; 16. H 10215; 17. H10223; 18. H10293; 19. H10293; 20. H10295a; 21. H10295a; 22. H10218; 23. H 10218; 24. H10285; 25. H10285; 26. H3283-1; 27. H3283-2; 28. H10218; 29. H10251; 30. H10285; 31. H10285; 32. H10287; 33. H10287.

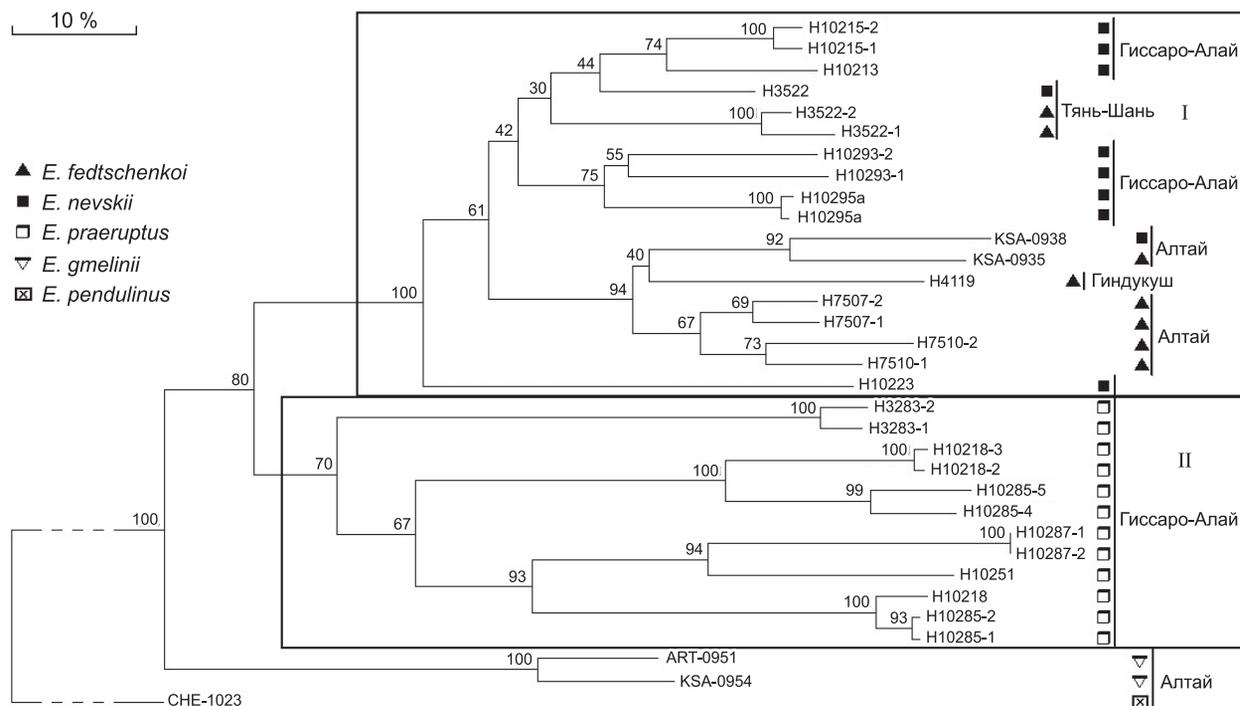


Рис. 6. Консенсусная NJ дендрограмма, построенная по шести ISSR-праймаерам. В узлах указаны значения бутстреп-поддержки. Шкала вверху – генетические расстояния.

Fig. 6. Consensus NJ dendrogram, built on six ISSR-primers. The nodes contain bootstrap support values. The scale at the top is genetic distances.

ки отделилась вся группа *E. praeruptus*, где вполне ожидаемо для самоопыляющегося рода *Elymus* близко расположились особи, выращенные из семян идентичных образцов.

Несколько сложнее оказались взаимоотношения по данному критерию между образцами *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* из разных мест обширного ареала видов. Так, между двумя малыми группами образцов *E. nevskii* из Гиссаро-Алая расположилась тянь-шаньская группа *E. fedtschenkoi* – *E. nevskii* (H3523–H3522) из общего местонахождения. Данный факт, так же как и сходство по белковым профилям, подтверждает единую филогенетическую историю двух видов. Аналогичным совместным расположением на дендрограмме охарактеризовалась пара образцов двух видов из Рудного Алтая Казахстана KSA-0935 и KSA-0938. Ожидаемо близко друг к другу разместились образцы *E. fedtschenkoi* из китайского Алтая H7507 и H7510.

Таким образом, согласно выявленному полиморфизму ISSR-маркеров, *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* обладают отчетливым генетическим сходством, тогда как *E. praeruptus* заметно отдален от этой пары видов. Нам предстоит завершить, обсудить и представить результаты по гибридизации выбо-

рочных биотипов *E. fedtschenkoi* и *E. nevskii* в нескольких поколениях, в том числе с привлечением родительских образцов с территории российского Горного Алтая.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН № АААА-А21-121011290025-2 и при частичной поддержке РФФИ (проект № 18-04-01030). При подготовке публикации использовались материалы биоресурсных научных коллекций ЦСБС СО РАН УНУ № USU 440534 и USU 440537 (NS, NSK). Авторы глубоко признательны шведскому коллеге Dr. B. Salomon (Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden) за неоценимую помощь при многолетнем сотрудничестве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

- Агафонов А.В., Агафопова О.В. SDS-электрофорез белков эндосперма у представителей рода пырейник (*Elymus* L.) с различной геномной структурой. *Сиб. биол. журн.* 1992;3:7-12.
[Agafonov A.V., Agafonova O.V. SDS-electrophoresis of endosperm protein in *Elymus* L. species with different genomic constitution. *Sibirskii Biologicheskii*

- Zhurnal = Siberian Biological Journal*. 1992;3:7-12. (in Russian)]
- Дробов В.П.** Сем. XXII. Gramineae – Злаки. В: Флора Узбекистана. Изд-во Узбекстанского филиала АН СССР. Ташкент, 1941;1:144-313.
[Drobov V.P. Fam. XXII. Gramineae. In: Flora Uzbekistanica. Tashkent, 1941;1:144-313. (in Russian)]
- Кобозева Е.В., Олонова М.В., Асбаганов С.В., Агафонов А.В.** Полиморфизм и специфичность StY-геномных видов *Elymus gmelinii* и *E. pendulinus* (Triticeae, Poaceae) на территории Азиатской части России. *Раст. мир Азиатской России*. 2015; 2(18):45-55.
[Kobozeva E.V., Olonova M.V., Asbaganov S.V., Agafonov A.V. Polymorphism and specificity of StY-genome species *Elymus gmelinii* (Triticeae, Poaceae) and *E. pendulinus* in the territory of Asian part of Russia. *Rastitel'nyj Mir Aziatskoj Rossii = Flora and Vegetation of Asian Russia*. 2015;2(18):45-55. (in Russian)]
- Невский С.А.** К систематике рода *Agropyrum* Gaertn. *Изв. Бот. сада АН СССР* (под ред. В.Л. Комарова). 1932;30(5-6):607-635.
[Nevskii S.A. On systematics of *Agropyrum* Gaertn genus. *Izvestiya Botanicheskogo Sada AN SSSR = Proceedings of the Botanical Garden of AS of USSR* (ed. by V.L. Komarov). 1932;30(5-6):607-635. (in Russian)]
- Невский С.А.** Колено XIV. Ячменевые – *Hordeae* Benth. В: Флора СССР (отв. ред. В.Л. Комаров). Л., 1934;2:590-728.
[Nevskii S.A. Koleno XIV. Barley – *Hordeae* Benth. In: Flora of USSR (ed. by V.L. Komarov). Leningrad, 1934;2:590-728. (in Russian)]
- Пешкова Г.А.** О некоторых сибирских видах рода *Elymus* L. (Poaceae). *Новости сист. высш. раст.* Л., 1985;22:39-43.
[Peshkova G.A. On some Siberian species of *Elymus* L. (Poaceae) genus. *Novosti Sistematiki Vysshikh Rasteniy = Novit. Syst. Plant. Vasc.* Leningrad, 1985; 22:39-43. (in Russian)]
- Пешкова Г.А.** *Elymus* L. – Пырейник. В: Флора Сибири. Новосибирск. 1990;2:17-32.
[Peshkova G.A. *Elymus* L. – Wheatgrass. In: Flora of Siberia. Novosibirsk. 1990;2:17-32. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н.** *Elymus* L. Растения Центральной Азии. *Мат. Бот. инст. АН СССР* Л. 1968;4:210-223.
[Tzvelev N.N. *Elymus* L. Plants of Central Asia. *Materialy Botanicheskogo Instituta AN SSSR = Proceedings of the Botanical Garden of AS of USSR*. Leningrad. 1968;4:210-223. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н.** *Elymus* L. Список растений Гербария флоры СССР. Бот. инст. АН СССР. Л., 1970; 1:28-30.
[Tzvelev N.N. *Elymus* L. List of plants of the herbarium of SSSR flora. Botanical Institute of Academy of Sciences USSR. Leningrad. 1970;1:28-30. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н.** Новые таксоны злаков (Poaceae) флоры СССР. *Новости сист. высш. раст.* Л. 1972;9:55-63.
[Tzvelev N.N. New taxa of cereals (Poaceae) of USSR flora. *Novosti Sistematiki Vysshikh Rasteniy = Novit. Syst. Plant. Vasc.* Leningrad. 1972;9:55-63. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н.** Обзор видов трибы Triticeae Dum. семейства злаков (Poaceae) во флоре СССР. *Новости сист. высш. раст.* Л. 1973;10:19-59.
[Tzvelev N.N. Review of species of *Triticeae* Dum. tribe, Poaceae family in the flora of USSR. *Novosti Sistematiki Vysshikh Rasteniy = Novit. Syst. Plant. Vasc.* Leningrad. 1973;10:19-59. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н.** Злаки СССР. Л., 1976:788.
[Tzvelev N.N. Cereals of the USSR. Leningrad, 1976. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н., Пробатова Н.С.** Роды *Elymus* L., *Elytrigia* Desv., *Agropyron* Gaertn., *Psathyrostachys Nevski* и *Leymus* Hochst. (Poaceae: Triticeae) во флоре России. *Комаровские чтения*. Владивосток, 2010; 57:5-102.
[Tzvelev N.N., Probatova N.S. Genera *Elymus* L., *Elytrigia* Desv., *Agropyron* Gaertn., *Psathyrostachys Nevski* and *Leymus* Hochst. (Poaceae: Triticeae) in the flora of Russia. *V.L. Komarov Memorial Lectures*. Vladivostok, 2010;57:5-102. (in Russian)]
- Цвелев Н.Н., Пробатова Н.С.** Злаки России. М., 2019.
[Tzvelev N.N., Probatova N.S. Cereals of Russia. Moscow, 2019. (in Russian)]
- Dewey D.R.** The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial *Triticeae*. In: Gene manipulation in plant improvement. N.Y., Plenum Publ. Corp. 1984;209-279.
- Drobov V.P.** Gramineae novae turkestanicae. I. *Feddes Repert.* 1925;21:37-46.
- Laemmly U.K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-685. DOI 10.1038/227680a0.
- Liu C.W., Dewey D.R.** The genome constitution of *Elymus fedtschenkoi*. *Acta Genet. Sinica*. 1983;10:20-27.
- Nei M., Li W.-H.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. of Nat. Acad. of Sciences of USA*. 1979;76(10): 5269-5273.
- Peschkova G.A.** *Elymus* L. In: Flora of Siberia. Poaceae (Gramineae). Enfield, USA; Plymouth, UK. 1990; 2:11-25.
- Salomon B.** Interspecific hybridizations in the *Elymus semicostatus* group (Poaceae). *Genome*. 1993;36:899-905. DOI 10.1139/g93-118.
- Salomon B.** Taxonomy and morphology of the *Elymus semicostatus* group (Poaceae). *Nord. J. Bot.* 1994; 14(1)7-21. DOI 10.1111/j.1756-1051.1994.tb00563.x.
- Salomon B., Lu B.-R.** Genomic groups, morphology and sectional delimitation in Eurasian *Elymus* (Poaceae, Triticeae). *Plant Syst. Evol.* 1992;180:1-13.
- Salomon B., Lu B.-R.** Genomic relationships between species of the *Elymus semicostatus* group and *Elymus*

- sensu lato (Poaceae). *Plant Syst. Evol.* 1994;191:199-211.
- Saitou N., Nei M.** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987;4(4):406-425. DOI: 10.1093/oxford-journals.molbev.a040454.
- Sneath P.H.A., Sokal R.R.** Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1973.
- Sun G., Zhang X.** Origin of the H genome in StH-genomic *Elymus* species based on the single-copy nuclear gene DMC1. *Genome.* 2011;54:655-662. DOI 10.1139/G11-036.
- Van de Peer Y., Wachter R.D.** TREECON for Windows: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Computer Applications in Biosciences.* 1994;10(5):569-570.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics.* 1994;20:176-183.

Информация об авторах:

Шабанова Елена Валерьевна – канд. биол. наук, в.н.с. лаборатории интродукции редких и исчезающих видов растений, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (630090, Новосибирск, ул. Золото-долинская, 101, Россия)
e-mail: ekobozeva87@mail.ru

Емцева Мария Васильевна – инженер лаборатории интродукции редких и исчезающих видов растений, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (630090, Новосибирск, ул. Золото-долинская, 101, Россия)
e-mail: emtsevamv@yandex.ru

Агафонов Александр Викторович – д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории интродукции редких и исчезающих видов растений, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (630090, Новосибирск, ул. Золото-долинская, 101, Россия)
ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1403-5867>
e-mail: agalex@mail.ru

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS BETWEEN THE CENTRAL ASIAN PERENNIAL GRASSES *ELYMUS FEDTSCHENKOI*, *E. NEVSKII* AND *E. PRAERUPTUS* (POACEAE)

E.V. Shabanova, M.V. Emtseva, A.V. Agafonov

Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Russia, 101, Zolotodolinskaya str., Novosibirsk, 630090, Russia;
ekobozeva87@mail.ru, emtsevamv@yandex.ru, agalex@mail.ru

Elymus fedtschenkoi, *E. nevskii* and *E. praeruptus* are three morphologically similar species traditionally assigned to the informal “*Elymus semicostatus* group” and distributed in open habitats in the mountainous regions of Central Asia, including the Russian Gorny Altai. There are no data on the finding of *E. praeruptus* within Russia to date. The work provides a detailed analysis of the history of synonymy of the studied species. Their close relationship is confirmed not only by morphological similarity, but also by the high numbers of bivalents per cell (10–12) in meiosis in interspecific hybrids (Salomon, 1993). Analysis of the variability of endosperm proteins in individual caryopses by SDS-electrophoresis showed the following: a) each of the three species has internal polymorphism, which makes it possible to effectively study inter- and intrapopulation specificity even using non-viable material; b) differences within the accessions of *E. fedtschenkoi* – *E. nevskii* are more pronounced with geographic remoteness than depending on the formal species; c) the accessions *E. praeruptus* from Gissar-Alai had completely unique sets of components, and the visual coincidence of the REM values with other accessions, in our opinion, may be of a random nature. According to the revealed polymorphism of ISSR markers, *E. fedtschenkoi* and *E. nevskii* have a distinct genetic similarity, while *E. praeruptus* is noticeably distant from this pair of species. Probably, biotypes with the trait “long lemma’s awns” (up to 25 mm), attributed to *E. fedtschenkoi* s. str., together with biotypes with the trait “short lemma’s awns” (1–6 mm), which are classified as *E. nevskii* s. str., should be attributed to a unified complex *E. nevskii* s.l.

Key words: *Elymus semicostatus* group, SDS-electrophoresis, ISSR-markers.

For citation. Shabanova, E.V., Emtseva V.V., Agafonov A.V. Phylogenetic relationships between the Central Asian perennial grasses *Elymus fedtschenkoi*, *E. nevskii* and *E. praeruptus* (Poaceae). *Rastitel’nyj Mir Aziatskoj Rossii = Flora and Vegetation of Asian Russia.* 2021;14(4):265-276. DOI 10.15372/RMAR20210401.

Acknowledgments. *This work was carried out within the framework of the state assignment of the CSBG SB RAS No. AAAA-A21-121011290025-2 and with partial support from the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-04-01030). In preparing the publication, materials from the bioresource scientific collections of the CSBG SB RAS UNU No. USU 440534 and No. USU 440537 (NS, NSK) were used. The authors are deeply grateful to their Swedish colleague Dr. B. Salomon (Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden) for great assistance during many years of collaboration.*

Authors info:

Elena V. Shabanova, Cand. Sci. in Biology, researcher of Laboratory of Introduction of Rare and Endangered Plant Species, Central Siberian Botanical Garden SB RAS (101, Zolotodolinskaya str., Novosibirsk, 630090, Russia)
e-mail: ekobozeva87@mail.ru

Maria V. Emtseva, engineer of Laboratory of Introduction of Rare and Endangered Plant Species, Central Siberian Botanical Garden SB RAS (101, Zolotodolinskaya str., Novosibirsk, 630090, Russia)
e-mail: emtsevamv@yandex.ru

Alexander V. Agafonov, Doctor Sci. in Biology, leading researcher of Laboratory of Introduction of Rare and Endangered Plant Species, Central Siberian Botanical Garden SB RAS (101, Zolotodolinskaya str., Novosibirsk, 630090, Russia)
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1403-5867>
e-mail: agalex@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Поступила в редакцию / Received by the editors 20.04.2021

Принята к публикации / Accepted for publication 11.09.2021