

**ВЗИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ *ELYMUS SIBIRICUS*, *E. CONFUSUS*
И *E. BOREOCHOTENSIS* (POACEAE): МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ,
ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ**

А.В. АГАФОНОВ, Д.Е. ГЕРУС

**RELATIONSHIPS BETWEEN *ELYMUS SIBIRICUS*, *E. CONFUSUS*
AND *E. BOREOCHOTENSIS* (POACEAE): MORPHOLOGICAL,
ELECTROPHORETIC AND REPRODUCTIVE DIFFERENTIATIONS**

A.V. AGAFONOV, D.E. GERUS

Центральный 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 (морфологическое, электрофоретическое и гибридологическое) изучение сибирских и дальневосточных биотипов *E. confusus* (Roshev.) Tzvel. в сравнении с морфологически близкими таксонами. Дана оценка пределов изменчивости этого вида по основным диагностическим признакам. В эксперименте показано, что между *E. confusus* и *E. sibiricus* возможна генетическая рекомбинация на $\alpha 2$ -уровне. Показано, что в результате гибридизации происходит образование репродуктивно стабильных биотипов, обладающих признаками родительских видов в разных комбинациях. Приохотские расы *E. confusus* и *E. pubiflorus* (= *E. peschkovae*) образуют единый морфологически и генетически обособленный таксон, за которым следует оставить первоначальное название *E. boreochochotensis* Khokhr. s.l. Выявлен диагностический признак, по которому *E. boreochochotensis* отличается от сибирских видов *E. confusus* и *E. peschkovae*.

Ключевые слова: *Elymus*, *E. confusus*, *E. sibiricus*, *E. boreochochotensis*, таксономия, биосистематика, SDS-электрофорез, гибридизация, рекомбинация.

A comparative comprehensive (morphological, electrophoretic and hybridological) study of Siberian and Russian Far Eastern biotypes of *E. confusus* (Roshev.) Tzvel. and closely related taxa was conducted. Variation of the species was evaluated by the main diagnostic characters. Genetic recombination between *E. confusus* and *E. sibiricus* at the $\alpha 2$ -level was shown in the experiment. Formation of reproductively stable biotypes possessing characters of parental species occurs as a result of hybridization. Geographical races of *E. confusus* and *E. peschkovae* from Okhotsk Region represent a unified morphologically and genetically isolated taxon which should be named *E. boreochochotensis* Khokhr. s.l. A diagnostic character by which *E. boreochochotensis* differs from the Siberian species *E. confusus* and *E. peschkovae* was revealed.

Key words: *Elymus*, *E. confusus*, *E. sibiricus*, *E. boreochochotensis*, taxonomy, biosystematics, SDS-electrophoresis, hybridization, recombination.

ВВЕДЕНИЕ

Elymus sibiricus L. — самый распространенный представитель рода *Elymus* в Азиатской части России. Это многолетний самоопыляющийся злак, имеющий геномную конституцию StStHH $2n=4x=28$ (Dewey, 1974). На континенте его ареал охватывает всю Европу от Исландии и Средиземноморья до Урала, почти всю палеарктическую часть Сибири,

а также некоторые районы Центральной Азии (Цвелев, 1976; Пробатова, 1985; Пешкова, 1990; Hultén, Fries, 1986). В Европе вид распространен повсеместно в Швеции и Дании, несколько реже в северной части Норвегии. В отличие от Европы, в Азии севернее 60-й широты обнаруживаются только отдельные редкие популяции.

E. sibiricus был включен К. Линнеем (Linnaeus, 1753) во вновь созданный род *Elymus* вместе с 5 другими видами, как типовой вид рода. С того времени этот вид дважды подвергался смене родовой принадлежности (*Hordeum sibiricum* (L.) Schrenk — *Clinelymus sibiricus* (L.) Nevski). Н. Цвелев (1973) вновь отнес его к роду *Elymus*. По сложившимся представлениям, вид характеризуется относительной морфологической однородностью, отсутствием таксонов подвидового ранга и сравнительно легко идентифицируется в природе. В пределах большей части ареала (территории бывших республик СССР) вид в настоящее время не вызывает каких-либо сомнений по поводу таксономического статуса. Однако в прошлом веке было несколько неудачных попыток описания новых видов на основе морфологически сходного материала. Так, из центральной Аляски был описан *Elymus pendulosus* Hodgson (Hodgson, 1956), но уже вскоре этот образец был признан как *E. sibiricus* (Bowden, Cody, 1961). Не был признан целесообразным перевод Р. Рожевицом (1932) разновидности *E. sibiricus* L. var. *krascheninnikovi* Boshev. из северо-западной Монголии на видовой уровень *E. krascheninnikovi* Roshev. (Цвелев, 1976).

Одним из морфологически и, вероятно, филогенетически близких таксонов *E. sibiricus* следует назвать северо-азиатский вид *E. confusus* (Roshev.) Tzvel. В России его ареал охватывает преимущественно южные гористые районы Центральной и Восточной Сибири и Российский Дальний Восток, где он отмечен значительно севернее (Пробатова, 1985, Пешкова, 1990). Геномная конституция вида также описывается формулой $StStHH\ 2n=4x=28$ (Lu et al., 1995).

В основу различий между *E. sibiricus* и *E. confusus* для регионов Сибири были положены следующие морфологические признаки: колосковые чешуи (КЧ) от линейных до ланцетных — КЧ узколанцетные, нижние цветковые чешуи (НЦЧ) шероховатые, реже с шипиками лишь по жилкам — НЦЧ голые или с одиночными короткими шипиками

по бокам, длина ости НЦЧ 10–25 мм длиной — ости НЦЧ 2–3 см (Пешкова, 1990). Из Магаданской области был описан близкий к *E. confusus* вид *E. boreochochotensis* Khokhr. (Хохряков, 1978), авторский диагноз которого имеет ряд противоречий. Так, указывается, что *E. boreochochotensis* хорошо отличается от *E. confusus* листьями и влагалищами густоволосистыми сверху, голыми колосками, нижними цветковыми чешуями, гладкими и без жилок, мельчайше опушенными члениками колосков. Однако типовой материал *E. confusus* обладает именно этими признаками. Но при этом в качестве отличий *E. boreochochotensis* не отмечается большое число коротких вегетативных побегов при малом количестве генеративных (это отличие особенно заметно при выращивании видов в сходных условиях), а также форма верхних цветковых чешуй (ВЦЧ). По мнению Н. Пробатовой (2006), этот вид является прибрежноморской расой *E. confusus* aggr. Еще одним таксоном, близким к вышеуказанной группе видов, следует назвать *E. pubiflorus* (Roshev.) Peschkova (Агафонов, 2008). В связи с тем, что имеется более ранний омоним, этому виду совершенно справедливо присвоено новое название *E. peschkovae* Tzvel. (Цвелев, 2008).

Таким образом, до настоящего времени остаются неясные вопросы и противоречия, касающиеся не только номенклатурных аспектов (Пешкова, 1985), но и реальных филогенетических отношений, в том числе репродуктивной изолированности (обособленности) этой группы таксонов. Основной целью данной работы являлось сравнительное изучение имеющегося гербарного и живого материала *E. confusus* s.l. (включая *E. boreochochotensis*), а также электрофоретическое исследование специфичности полиморфных белков запасного ряда (проламин-глютелиновый комплекс эндосперма) и гистона H1 у выборочных образцов данной группы близких таксонов. Кроме того, выявлялись морфологические и репродуктивные характеристики созданных гибридных растений *E. sibiricus* × *E. confusus* в поколениях F₁ и F₂.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Для установления таксономически значимых морфологических признаков были изучены типовые и региональные образцы в гербариях Ботанического института им. В.А. Комарова РАН (LE), Центрального Сибирского ботанического сада СО РАН (NSK) и Биолого-почвенного института ДВО РАН (VLA). Дополнительно привлечены собственные сборы видов из разных

регионов Азиатской части России, в том числе материал другого самостоятельного вида *E. peschkovae*. Места сбора образцов, включенных в электрофоретическое исследование и гибридологический опыт, показаны в таблице. Следуя указаниям существующих видовых диагнозов, мы разделили образцы из Магаданской обл. на *E. confusus* (гладкие НЦЧ, коротко-шиповатые членики колосковой оси, ЧКО)

Происхождение образцов *E. confusus* s.l., *E. sibiricus* и *E. peschkovae*

Код образца	Местонахождение и авторы сбора
<i>E. confusus</i>	
TAR-0730	Респ. Тува, Тес-Хемский р-н, пер. Шуурмакский, северо-западные отроги хр. Хорумнуг-Тайга. Елово-лиственный разнотравно-злаковый лес. алт. 1545 м; N 50° 37'; E 95° 11' (И. Артемов)
BUA-0516	Респ. Бурятия, Тункинский р-н, окр. пос. Аршан, южн. макросклон Тункинского хр., смешанный лес по лев. бер р. Кынгарга; алт. 949 м; N 51°55.78'; E 102°25.34' (А. Агафонов, Д. Герус)
BUM-0505	Респ. Бурятия, Тункинский р-н, окр. пос. Монды, южн. макросклон Тункинского хр. каменистый берег ручья; алт. 1738 м; N 51°42.610'; E 100°59.967' (А. Агафонов, Д. Герус)
BUR-0557	Респ. Бурятия, Окинский р-н, дол. р. Ока, галечник на правом притоке р. Ока; алт. 1858 м; N 51°57.383' E 100°33.564' (А. Агафонов, Д. Герус)
GAR-0540	Респ. Бурятия, Окинский р-н, дол. р. Ока, галечник у моста р. Гарган; алт. 1610 м; N 52° 05.966' E 100°22.950' (А. Агафонов, Д. Герус)
CHI-9303	Читинская обл., Калгинский р-н, окр. пос. Доно (Н. Ермаков)
CHI-9624	Читинская обл., Хилокский р-н, окр. пос. Бада (Н. Ермаков)
MGA-0708, MGA-0709	Магаданская обл., Ольский р-н, окр. пос. Гадля, пойма р. Ола; алт. 30 м; N 59°40.158' E 151°18.759' (Д. Герус)
MAR-0711, MAR-0715	Магаданская обл., Ольский р-н, 23-й км Арманской трассы; алт. 404 м; N 59°40.249' E 150°33.902' (Д. Герус)
MKA-0714	Магаданская обл., Хасынский р-н, окр. пос. Карамкен, галечник на р. Хасын; алт. 467 м; N 60°12.938' E 151°05.258' (Д. Герус)
KAB-9602	Камчатская обл., Быстринский р-н, 13 км юго-вост. пос. Анавгай, граница лиственного леса у автотрассы; алт. 246 м; N 55° 59.64' E 159°8.55' (А. Агафонов)
<i>E. pubiflorus</i> = <i>E. peschkovae</i>	
JAT-8919	Респ. Якутия-Саха, Алданский р-н, отмель р. Тимптон вблизи места впадения в р. Алдан (О. Потемкин)
AMU-8804	Амурская обл., 60 км вниз по р. Гиллюй от г. Тында (О. Потемкин)
MGA-0721, MGA-0722	Магаданская обл., Ольский р-н, окр. пос. Гадля, галечник у р. Ола; алт. 35 м; N 59°40.378' E 151°18.182' (Д. Герус)
MOL-0723, MOL-0724	Магаданская обл., Ольский р-н, окр. пос. Ола, пойма р. Ола, у моста; алт. 9 м; N 59° 34.973' E 151°16.090' (Д. Герус)
МОК-0725 МОК-0726	Окр. г. Магадан, Арманская трасса, бер. р. Окса; алт. 115 м; N 59°39.767' E 150°29.955' (Д. Герус)
MKA-0728	Магаданская обл., Хасынский р-н, окр. пос. Карамкен, галечник на р. Хасын; алт. 467 м; N 60°12.938' E 151°05.258' (Д. Герус)
<i>E. sibiricus</i>	
BUR-0569	Респ. Бурятия, Окинский р-н, дол. р. Ока, галечник на правом притоке р. Ока; алт. 1858 м; N 51°57.383' E 100°33.564' (А. Агафонов, Д. Герус)

Примечание. Жирным шрифтом выделены образцы, включенные в гибридизацию.

и *E. peschkovae* (шиповатые или волосистые НЦЧ, волосистые ЧКО).

Анализ изменчивости по диагностическим признакам на качественном уровне. Анализировались основные диагностические признаки: форма колоса, длина остей нижних цветковых чешуй (НЦЧ), число колосков на уступе колоса, форма и остистость колосковых чешуй (КЧ), коэффициент относительной длины КЧ соотношение между длиной КЧ и прилегающей НЦЧ, $k = L_{\text{КЧ}}/L_{\text{НЦЧ}}$; степень опушенности НЦЧ и ЧКО.

Электрофорез. Выделение и электрофорез белков эндосперма и гистона H1 в SDS-системе (Laemmli 1970) проводили по оригинальным методикам (Агафонов, Агафонова, 1992; Костина, Агафонов, 2002).

Половая гибридизация. Все процедуры по созданию половых гибридов и оценки их семенной фертильности (СФ) в поколениях F_1 – F_2 были выполнены, как описано ранее (Agafonov, 1994; Агафонов, 1997; Агафонов, Герус, 2008).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ морфологической изменчивости

Типичные экземпляры *E. sibiricus* и *E. confusus* достаточно легко различимы (рис. 1). Диагнозы видов, ориентированные именно на типичные формы, также показывают четкие морфологические различия между видами. При этом в диагнозах обоих видов длины колосковых чешуй (КЧ) характеризуются одинаково — в 2–3 раза короче прилежащих НЦЧ, хотя по этому признаку виды несколько различаются — соотношение длин КЧ и НЦЧ у *E. sibiricus* меньше ($k = L_{\text{КЧ}}/L_{\text{НЦЧ}} = 0.2–0.4$), чем у *E. confusus* ($k = 0.4–0.5$).

При анализе гербарного материала данных видов становится очевидным, что в некоторых частях ареала многие признаки и их комбинации в ряде случаев перекрываются. Наиболее существенным различительным признаком для этих двух видов считается число колосков на уступе, у *E. sibiricus* колоски большей частью двоянные, у *E. confusus* — всегда по одному. Как сообщалось ранее (Агафонов, 2008), этот признак у *E. sibiricus* подвержен модификационной изменчивости, и при неблагоприятных условиях произрастания могут формироваться одноколосковые особи. В этих случаях растения *E. sibiricus* определяют, как *E. confusus*. Наследственной и модификационной изменчивости в пределах видов подвержена и длина остей НЦЧ, что также не способствует однозначной идентификации видов. Одним из признаков при определении вида в большинстве случаев может служить форма верхних цветковых чешуй (ВЦЧ), у *E. confusus* они «замечено короче нижних, на верхушке обрубленные» (Пешкова, 1985; 1990) или «притупленные или слабовеямчатые» (Невский, 1934). Тем не менее, и этот признак подвержен некоторой изменчивости, как показал анализ материала *E. confusus* из разных точек ареала.

Исследование гербарного материала из гербария NSK показало, что образцы *E. confusus* различаются по признакам, некоторые из которых связаны с разными стадиями развития растений и спелости колосьев:

1. По ширине и опушенности листовых пластин — до 4 мм (б/н, Бурятия, Еравнинский р-н, 1950, колл. Тахистова) и даже не шире 3 мм (б/н, Иркутская обл., ВГЗ, остров у Демон-Оронского порога, Е. Четкин) до 8–9 мм (№ 3022, Бурятия, Еравнинский р-н, пос. Ширинга, 1965, Г. Пешкова; б/н, Восточное Забайкалье, р. Куэнга, приток р. Шилка, с. Усть-Горбица, 1964, Г. Пешкова)
2. По оттенку колосьев — от красноватого (№ 2168, Баргузинский хр., р. М-Корпусы, гольцо-

вый пояс, щебнистый склон над водопадом, 1965, М. Иванова) до желтого (б/н, Восточное Забайкалье, р. Шилка, г. Сретенск, падь Удирина, 1963, Г. Пешкова).

3. По общей величине (мощности) колосьев — очень тонкие и слабые (7–8 см), как у предыдущего образца, или относительно широкие и мощные (№ 1329, Становое нагорье, хр. Ходар, ср. течение ручья, впадающего в оз. Леприндо, подгольцовый пояс, 1967, Н. Водопьянова).

При более широком рассмотрении материала, включающего гербарии LE, NSK, VLA и сборы авторов, можно заметить вариации по признаку формы верхних цветковых чешуй — от широкой верхушки с выемкой или почти закругленных (приближаются к форме ВЦЧ у *E. gmelinii*), до зауженной с еле заметными зубчиками (сходны с ВЦЧ у *E. sibiricus*). Также варьировало соотношение длин верхних и нижних цветковых чешуй. Наиболее часто можно отметить несколько укороченные ВЦЧ относительно НЦЧ, но у большинства образцов из Охотии верхние и нижние чешуи неразличимо равны между собой. Так, образцы *E. confusus* MAR-0715 и *E. pubiflorus* (= *E. peschkovae*) MOL-0723 по форме ВЦЧ оказались более схожими с *E. sibiricus*, чем с морфотипами *E. confusus* из Сибири, откуда был описан этот вид (рис. 2, 6, 7). Более всего на ВЦЧ сибирских образцов были похожи чешуи камчатских образцов, в том числе собранный нами КАВ-9602 (рис. 2, 9). В целом, большинство образцов более всего соответствовали видовому диагнозу только по признакам длины остей (увеличены по сравнению с таковыми у *E. sibiricus* до 20–30 мм) и отсутствию опушения нижних цветковых чешуй и члеников колосковой оси. Признак шероховатости НЦЧ также не является абсолютным, т.к. у *E. sibiricus* наблюдается значительный полиморфизм в пределах Сибири, а у *E. confusus* — в северной части Дальнего Востока. Так, среди большой выборки образцов из Магаданской области (колосья со 156 особей) отмечены не только экземпляры с контрастными признаками (гладкие — волосистые НЦЧ), но и серия экземпляров, имеющих все переходные состояния этого признака. К вопросу о правомерности разделения приохотских экземпляров по признаку опушенности НЦЧ на два самостоятельных вида *E. confusus* и *E. peschkovae* мы вернемся ниже.

2. Изменчивость природных образцов разных таксонов по запасным белкам эндосперма

Мы неоднократно наблюдали в природе совместное произрастание типичных форм *E. sibiricus*

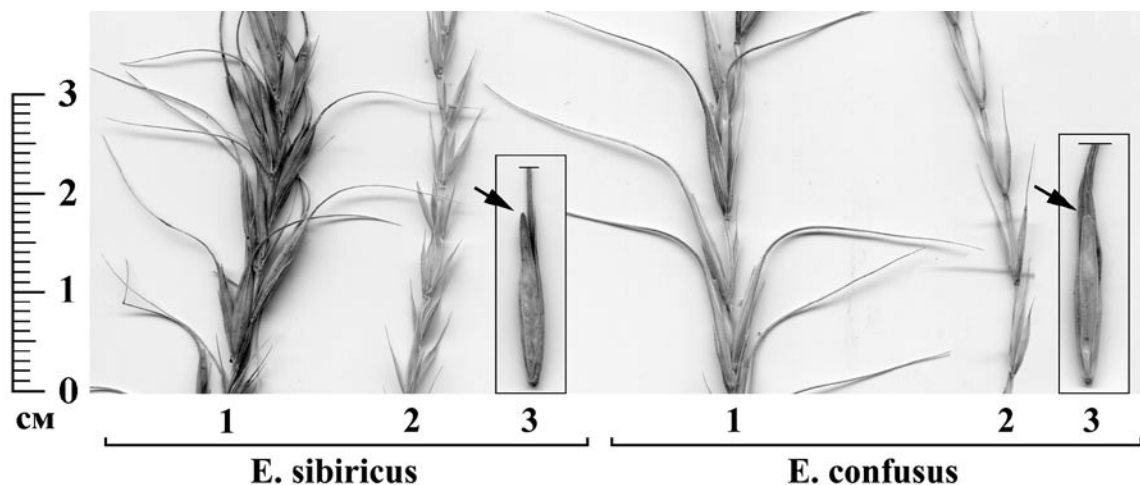


Рис. 1. Фрагменты колосьев и зерновки родительских биотипов *E. sibiricus* BUR 0569 и *E. confusus* BUM-0505. 1. Зрелый колос. 2. Ось колоса с колосковыми чешуями. 3. Верхние цветковые чешуи (ости нижних цветковых чешуй удалены). Стрелками указаны верхушки ВЦЧ

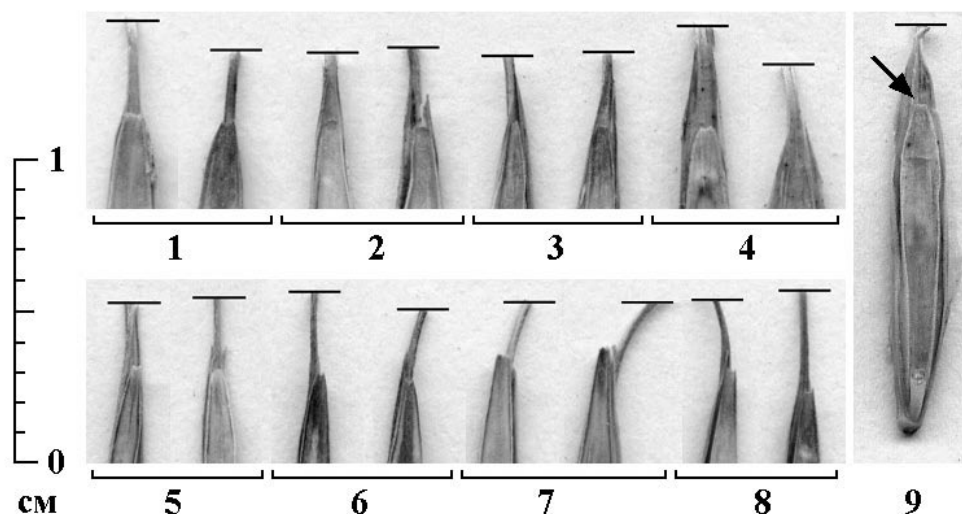


Рис. 2. Форма верхних цветковых чешуй (ВЦЧ) у разных биотипов *E. sibiricus*, *E. confusus* и морфологически близких таксонов. Верхушки двух зерновок с растения, ости нижних цветковых чешуй удалены. Типичные формы *E. confusus*: 1. TAR-0730; 2. BUM-0505; 3. GAR-0540; 4. CHI-9303; 5. JAT-8919; 6. *E. confusus* (*E. boreochochotensis*) MAR-0715; 7. *E. pubiflorus* (= *E. peschkovae*) MOL-0723; 8. *E. sibiricus* BUR-0569; 9. Полная зерновка *E. confusus* KAB-9602. Стрелка показывает верхушку ВЦЧ, характерную для *E. confusus*

и *E. confusus*, а также отмечали наличие в популяциях промежуточных особей по форме КЧ и ВЦЧ. Можно предположить, что существование трудно определяемых промежуточных форм в ряде случаев может вызываться спонтанной гибридизацией между *E. sibiricus* и *E. confusus*, но на основе морфологического анализа доказать гибридное происхождение таких образцов крайне затруднительно. Косвенными свидетельствами могут быть только показатели состояния пыльников и значения семенной фертильности (СФ) конкретных особей. Для выяснения возможности прохождения генетической рекомбинации между этими видами нами были

электрофоретически проанализированы зерновки выборочных образцов видов из смешанных популяций Восточного Саяна: BUA-05 — Тункинский хр., лев. бер р. Кынгарга; BUM-05 — Тункинский хр., окр. пос. Монды; GAR-0540 — Окинский р-н, дол. р. Ока; BUR-05 — Китойские гольцы. Как показали результаты, в этом районе два вида отчетливо различаются по электрофоретической подвижности высокомолекулярных субъединиц (4–20 ед. ОЭП). В остальных зонах ОЭП наблюдался полиморфизм, обеспеченный множественным аллелизмом кодирующих генов. Однако в зерновках некоторых растений двух видов были обнаружены компоненты и

даже группы, идентичные по ОЭП (рис. 3). На фоне широкого внутривидового полиморфизма это с незначительной вероятностью может быть случайным совпадением. Нам представляется более вероятным прохождение интрогрессивных процессов, связанных не только со спонтанной гибридизацией, но и с выживанием части рекомбинантных особей, сочетающих генетические системы разных видов.

С целью выявления особенностей видовой и географической дифференциации у *E. confusus* s. str., *E. peschkovae* и *E. boreochochotensis* был проведен анализ специфичности полипептидных спектров белков эндосперма. Результаты сравнительного опыта показали, что в Южной Сибири более всего сходны между собой образцы *E. confusus* из Восточного Саяна и хр. Восточный Танну-Ола (рис. 4, дорожки 1–5). Восточный Саян расположен наиболее близко к месту классического обитания этого вида (точное местонахождение неизвестно), поэтому можно предполагать наличие именно видовой специфичности высокомолекулярных субъединиц 20–23 ед. ОЭП.

Близкими значениями ОЭП обладали два образца *E. confusus* из Читинской обл., но от всех вышеназванных отличались два сходные между собой образца *E. peschkovae*. Один из них (JAT-8919)

был ранее включен в сравнительное исследование (Агафонов, 2008). При этом было предположено, что данный биотип, обладающий волосистой поверхностью НЦЧ, филогенетически является составной частью вида *E. confusus*. Результаты электрофоретического опыта пока не подтвердили это предположение и свидетельствуют скорее об обратном, т. е. о некоторой обособленности образца JAT-8919 от *E. confusus*. К сожалению, генотип этого образца не может быть использован в гибридологическом исследовании в дальнейшем из-за потери всхожести семян. Примечательно, что полипептидный спектр другого образца *E. peschkovae* AMU-8804 из Амурской области совпадал с предыдущим по большому числу компонентов. Это также говорит в пользу видовой специфичности *E. peschkovae* в Сибири.

Принципиально другие выводы и предположения следуют из анализа дальневосточных биотипов *E. confusus* и *E. peschkovae*. Как уже упоминалось выше, из Магаданской области был описан близкий к *E. confusus* вид *E. boreochochotensis*, который позднее был отнесен к прибрежной расе *E. confusus* (Пробатова, 2006). При этом автор считает, что в это же районе произрастает самостоятельный вид *E. peschkovae*. Нами изучено большое число образцов этих двух видов, а также серия экземпляров, обладающих промежуточными состояниями (экспрессивности) по различительным признакам «голые — шиповатые НЦЧ» и «мелкошиповатые — волосистые ЧКО». Примечательно, что многие особи из Магаданской области, в частности, из популяций MOL, MAR, МОК и МКА, обладали почти идентичными полипептидными спектрами, независимо от формальной видовой принадлежности. Различия по некоторым группам полипептидов могут быть объяснены закономерной популяционной изменчивостью. Наибольшими отличиями характеризовались два образца *E. confusus* из популяции MGA, которые заметно не совпадали с образцами *E. pubiflorus* из этой же популяции. Данные образцы *E. confusus* оказались морфологически более близкими к образцу *E. confusus* KAB-9602 из центральной части Камчатки.

При сопоставлении результатов морфологического и электрофоретического анализов нами сделан вывод, что приохотские образцы *E. confusus* и *E. peschkovae* представляют единый таксон с варьирующими признаками опушения НЦЧ и ЧКО, который можно принять за самостоятельный вид *E. boreochochotensis* Khokhr. (Хохряков, 1978). Это означает, что вид должен включать не только особи, близкие по морфологии НЦЧ и ЧКО к *E. confusus*, но и особи, сходные с *E. peschkovae*. Особи с цент-

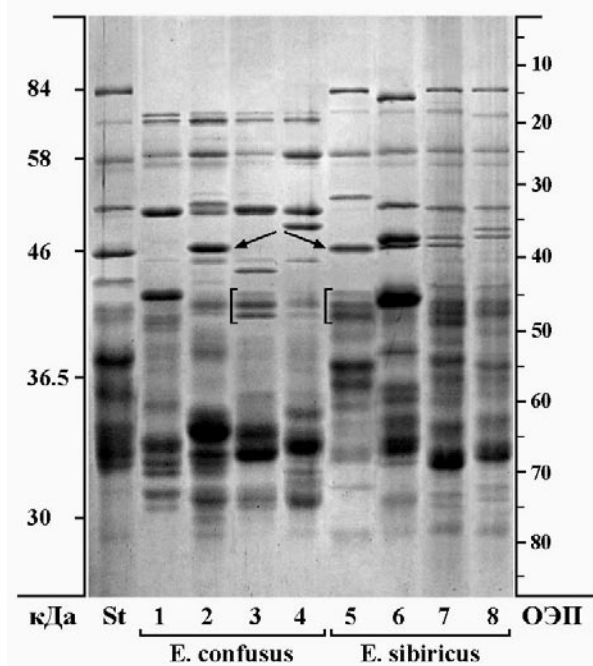


Рис. 3. SDS-электрофореграмма белков эндосперма образцов *E. confusus* и *E. sibiricus* при совместном произрастании в некоторых точках Восточного Саяна. Полипептидные спектры отдельных зерновок в варианте +Me.

E. confusus: 1. BUA-0516; 2. BUM-0505; 3. GAR-0540; 4. BUR-0557.
E. sibiricus: 5. BUA-0566; 6. BUM-9706; 7. GAR-0539; 8. BUR-0569

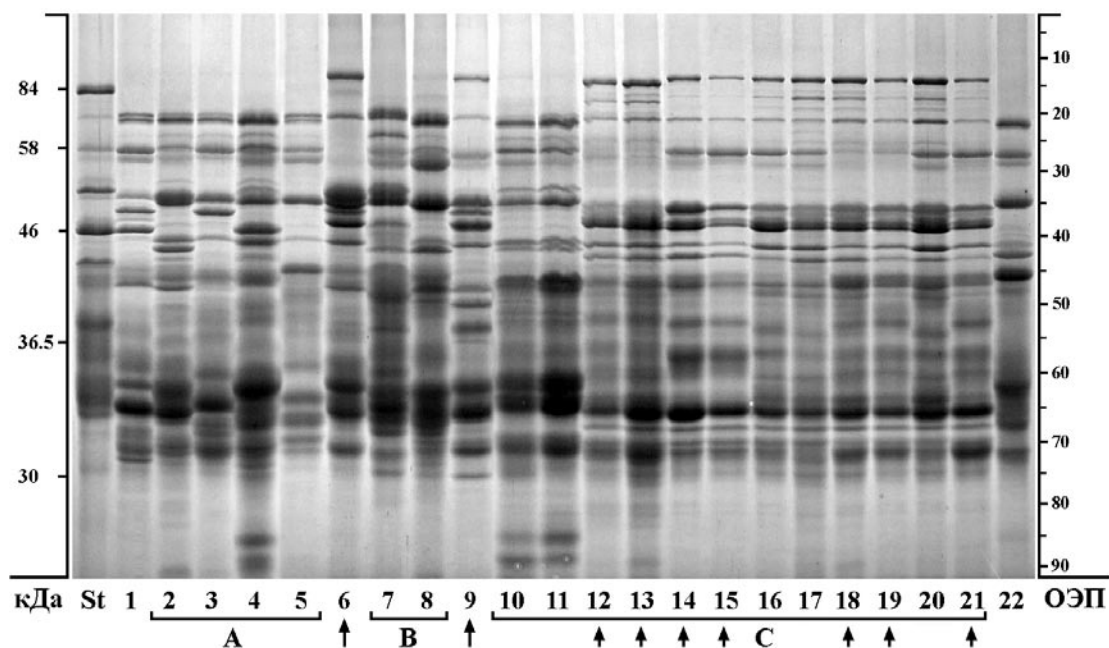


Рис. 4. Изменчивость и специфичность белков эндосперма у биотипов *E. confusus* s. str., *E. peschkovae* (указаны стрелками) и *E. boreochochotensis*. Полипептидные спектры индивидуальных зерновок с природных особей. Длинными стрелками указаны сибирские образцы *E. peschkovae*, короткими — магаданские образцы, близкие по описаниям к *E. peschkovae*.

1. Респ. Тува, TAR-0730. А — Респ. Бурятия: 2. GAR-05402; 3. BUR-0557; 4. BUM-0505; 5. BUA-0516; 6. JAT-8919. В — Читинская обл.: 7. CHI-9303; 8. CHI-9624. 9. Амурская обл., AMU-8804. С — Магаданская обл.: 10. MGA-0708; 11. MGA-0709; 12. MGA-0721; 13. MGA-0722; 14. MOL-0723; 15. MOL-0724; 16. MAR-0715; 17. MAR-0711; 18. МОК-0725; 19. МОК-0726; 20. МКА-0714; 21. МКА-0728; 22. Камчатский край, п-ов Камчатка KAB-9602

ральной Камчатки, по-видимому, могут быть в настоящий момент отнесены к *E. confusus*, несмотря на географическую отдаленность от классического местообитания вида.

3. Гибридологический анализ репродуктивной совместимости *E. sibiricus* и *E. confusus*

Для проверки возможности успешной гибридизации, т. е. об отсутствии природного запрета на межвидовую рекомбинацию или интрогрессию, нами был создан гибрид между типичными образцами *E. sibiricus* BUR-0569 (материнская форма) и *E. confusus* BUM-0505 (отцовская форма) из Восточного Саяна. Выращенные на экспериментальном участке ЦСБС СО РАН два гибридных растения поколения F_1 по основному диагностическому признаку — число колосков на уступе — легко идентифицировались как *E. sibiricus*. По другим диагностическим признакам растения F_1 показали промежуточное состояние морфологических характеристик родительских видов (КЧ имели $k = L_{\text{КЧ}}/L_{\text{НЦЧ}} = 0.3-0.5$; ВЦЧ на верхушке несколько укорочены по сравнению с материнской формой *E. sibiricus* BUR 0569 и заметно притупленные). Пыльники гибридов F_1 были большей частью открытые (рис. 5), значения семенной фертильности у растений составили от 2 до 7 зерновок на колос.

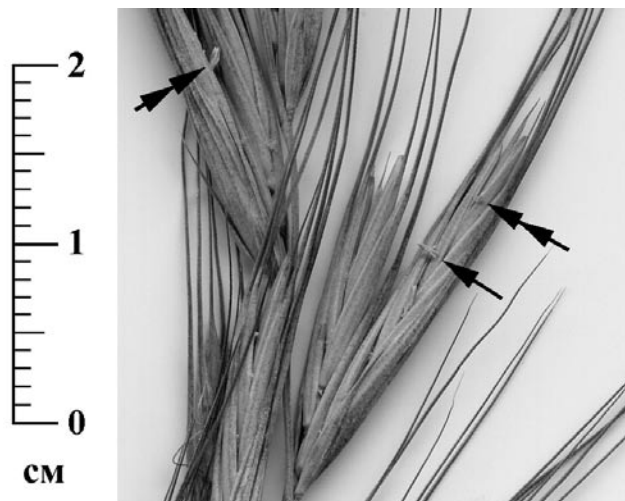


Рис. 5. Фрагмент колоса гибридного растения F_1 *E. sibiricus* BUR-0569 × *E. confusus* BUM-0505. Двойными стрелками указаны открытые пыльники, одиночная стрелка показывает один из закрытых пыльников

Из 20 растений выборки F_2 , выращенных на открытом грунте в сезон 2009 г., большинство особей (17) могут быть однозначно определены как *E. sibiricus* по признаку сдвоенных колосков, и только 3 растения несли одиночные колоски на всех

колосьях. Некоторые из морфотипов оси колоса в выборке F_2 показаны на рис. 6. в сравнении с морфотипами родительских биотипов и осью колоса с растения F_1 . Отчетливо заметны различия в размерах и остистости КЧ. Кроме материнского биотипа *E. sibiricus* полностью «одноколосковыми» идентифицированы только растения 4, 8 и 17 (последнее не показано на рисунке), но они различались по размерам КЧ. По всем другим признакам растения выборки также проявили вариабельность, связанную с расщеплением при самоопылении исходного

гибрида. Так, форма и размеры верхних цветковых чешуй варьировали в видимых пределах между типами исходных родительских биотипов — от удлинённых и зауженных на верхушке, как у материнской формы *E. sibiricus*, до «притупленных и слабовыемчатых» по С.А. Невскому (1934), как у отцовской формы *E. confusus* (рис. 7).

Для регистрации рекомбинационных процессов между данными биотипами двух видов был проведен электрофорез запасных белков эндосперма зерновок F_2 с одного из гибридных растений на

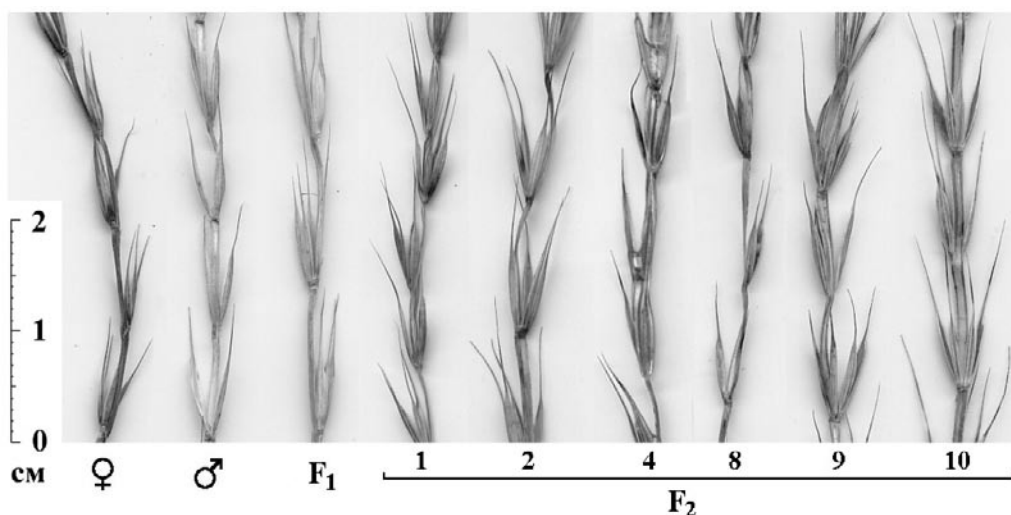


Рис. 6. Морфология оси колоса в средней части с колосковыми чешуями у растений F_1 и F_2 гибрида *E. sibiricus* BUR-0569 × *E. confusus* BUM-0505 в сравнении с таковой у родительских биотипов (цветки удалены)

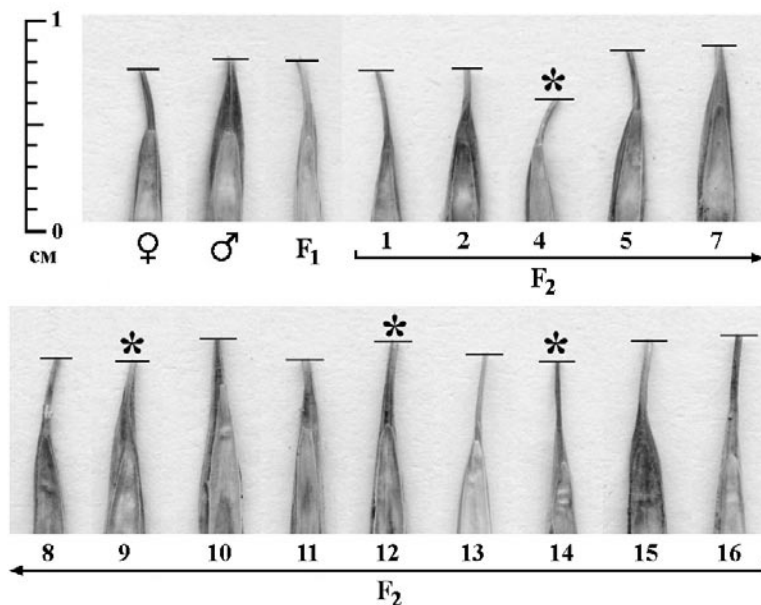


Рис. 7. Форма верхних цветковых чешуй (ВЦЧ) у зерновок с растений F_1 и F_2 гибрида *E. sibiricus* BUR-0569 × *E. confusus* BUM-0505 в сравнении с родительскими биотипами (ости НЦЧ удалены). Звездочками отмечены зерновки с промежуточной формой ВЦЧ

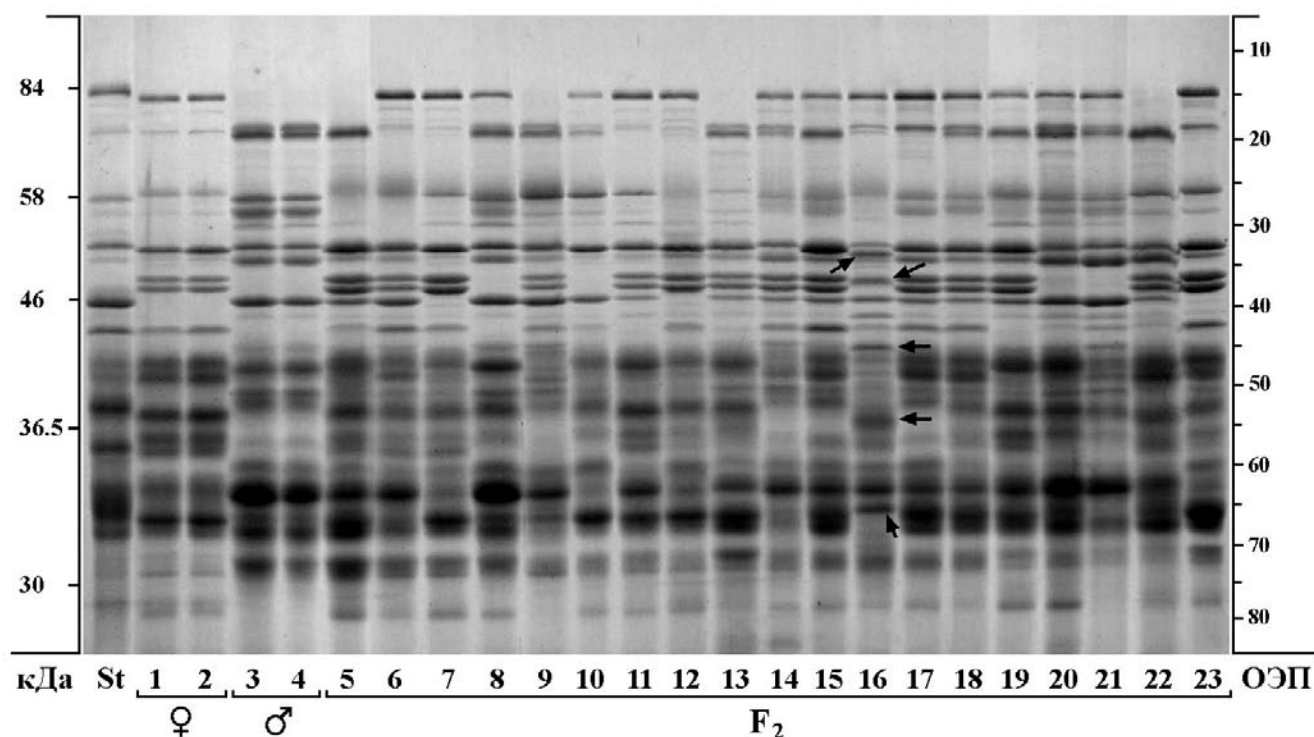


Рис. 8. Изменчивость белков эндосперма у гибрида *E. sibiricus* × *E. confusus* в поколении F_2 в сравнении с родительскими биотипами BUR-0569 и BUM-0505. Полипептидные спектры индивидуальных зерновок с гибридного растения F_1 . Стрелками указаны дополнительные компоненты в спектре зерновки 16

предмет дополнительного спонтанного опыления. Как известно, эти белки являются достаточно чувствительными маркерами микроэволюционных процессов в популяциях. На электрофореграмме видно (рис. 8), что в зерновках F_2 присутствуют преимущественно родительские полипептидные компоненты в разных комбинациях. Это свидетельствует о том, что при цветении имело место самоопыление вследствие одноступенчатой рекомбинации наследственного материала родительских видов. Исключение составил образец № 16, у которого отмечены дополнительные компоненты в области 41, 45, 50 ед. ОЭП. Следовательно, это единичное растение было опылено дополнительным спонтанным опылителем из произрастающих в пределах экспериментального участка. Данное явление, составляющее основу интрогрессивных процессов, было нами проанализировано на примере других видов рода *Elytus* (Герус, Агафонов, 2006).

Гистоны H1 характеризуются меньшим внутривидовым полиморфизмом по сравнению с белками запасного ряда, а в некоторых случаях проявляют большую видоспецифичность. Именно поэтому нами было проведено сравнение данных, полученных при анализе белков эндосперма, и результатов электрофоретического анализа гистона H1 растений у выборки растений F_2 этого же гибрида

(рис. 9). Анализ электрофореграммы показал, что в гибридизацию был взят биотип *E. confusus* BUM-0505, который по группе фракций (а) был тождественным биотипу *E. sibiricus*, хотя среди образцов *E. confusus* из Восточного Саяна был отмечен полиморфизм, значительно отличающий этот вид от *E. sibiricus* (рис. 9, А). Возможно, биотип BUM-0505 изначально представлял собой интрогрессивную линию, так как произрастал в обширной смешанной популяции. Поэтому у гибридных растений F_2 можно было проследить только распределение фракций группы (b). Большая часть особей этого поколения полностью повторяла родительские спектры гистона H1 (растения 2, 5, 9 сходны с материнским биотипом *E. sibiricus*; растения 3, 4, 11, 15 сходны с отцовской формой *E. confusus*), а растения №№ 1, 7, 12 и 14 были гетерозиготны по субфракциям родителей.

У некоторых растений можно предположить рекомбинацию родительских субфракций. Так, растения № 6 и № 10 имели верхнюю субфракцию *E. sibiricus* и нижнюю — *E. confusus* (показаны стрелками), у растений № 8 и № 13 можно предположить наличие двух верхних субфракций родителей. Никаких дополнительных субфракций, указывающих на участие третьего генотипа-опылителя, в выборке не обнаружено. Эти данные так-

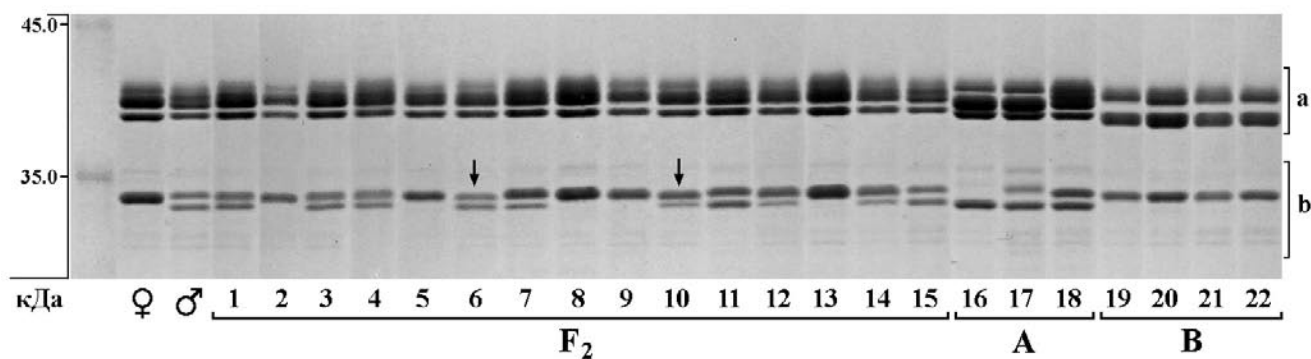


Рис. 9. SDS-спектры гистона Н1 у растений F_2 гибрида *E. sibiricus* × *E. confusus* в сравнении с родительскими биотипами BUR-0569 и BUM-0505, растений *E. confusus* из Южной Сибири (А) и морфологических форм, близких *E. confusus* из Магаданской области (В). 16. BUR-0557; 17. GAR-0540; 18. TAR-0730; 19. МКА-0714 (морфотип «*confusus*»); 20. МКА-0728 (морфотип «*pubiflorus*»); 21. MAR-0711 (морфотип «*confusus*»); 22. MAR-0712 (морфотип «*pubiflorus*»)

же подтверждают наш вывод, что гибридизация между *E. sibiricus* и *E. confusus*, по крайней мере, в некоторых комбинациях скрещивания может проходить по пути одноступенчатой рекомбинации наследственного материала. Однако наиболее примечательным можно отметить тот факт, что биотипы из Магаданской области не только обладают спектром субфракций, отличающим их от сибирских, но и содержат идентичные субфрак-

ции (рис. 9, В). Это означает, что магаданские биотипы образуют не два отдельных вида *E. confusus* и *E. peschkovae*, а формируют единую приохотскую популяцию. Помимо двух морфологически крайних форм с гладкими НЦЧ и мелкошиповатыми ЧКО, с одной стороны, и форм с очень волосистыми НЦЧ и длинношиповатыми ЧКО — с другой, в 6 популяциях нами обнаружены все переходные морфотипы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в эксперименте показано, что при совместном произрастании *E. sibiricus* и *E. confusus* между видами с некоторой вероятностью возможна генетическая рекомбинация в результате половой гибридизации. Именно этот процесс может быть источником возникновения и закрепления в природных популяциях морфологически промежуточных форм. Это дает основания для отнесения *E. sibiricus* и *E. confusus* к единому рекомбинационному генпулу с репродуктивной совместимостью на $\alpha 2$ -уровне по меньшей мере в пределах Южной Сибири. Однако достоверно определить гибридное происхождение таких образцов можно только с помощью молекулярно-

генетических маркеров. Результаты детального морфологического анализа, а также изучения изменчивости и специфичности белков эндосперма и гистона Н1 свидетельствуют о том, что приохотские расы *E. confusus* и *E. peschkovae* образуют единый морфологически, экологически и генетически обособленный таксон, за которым следует оставить первоначальное название *E. boreochochotensis* Khokhr. s.l. Выявлен отчетливый диагностический признак (удлиненные и зауженные верхушки верхних цветковых чешуй), по которому *E. boreochochotensis* отличается от сибирских видов *E. confusus* и *E. peschkovae*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 04-04-48720, № 04-08-00747.

ЛИТЕРАТУРА

- Агафонов А.В. Принцип рекомбинационных (РГП) и интрогрессивных (ИГП) генпулов в биосистематике рода пырейник (*Elymus* L.) Северной Евразии // Сиб. экол. журн. 1997. Т. IV. № 1. С. 81–89.
- Агафонов А.В. Общая структура рекомбинационного генпула *Elymus sibiricus* и взаимоотношения вида с морфологическими близкими таксонами *E. pubiflorus*, *E. lineicus* и *E. yubari-*
- dakensis*. Сообщение II. Взаимоотношения скрещиваемости биотипов *E. sibiricus* и *E. pubiflorus* и генетический анализ некоторых диагностических признаков // Сибирский ботанический вестник: электронный журнал. 2008. Т. 3. Вып. 1–2. С. 11–20.
- 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., Герус Д.Е. Исследование полиморфного комплекса *Elymus charkeviczii* Probat. s.l. (*Triticeae: Poaceae*) полуострова Камчатка с позиций биосистематики и таксономической генетики // Растительный мир Азиатской России. 2008. № 1. С. 58–70.
- Герус Д.Е., Агафонов А.В. Моделирование интрогрессивных процессов между *Elymus fibrosus* и *E. caninus* и их регистрация с помощью одномерного SDS-электрофореза // Генетика. 2006. Т. 42. № 12. С. 1405–1413.
- 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.
- Невский С.А. Колено XIV. Ячменевые — *Hordeae* Benth. // Флора СССР. Л., 1934. Т. II. С. 590–728.
- Пешкова Г.А. О некоторых сибирских видах рода *Elymus* L. (*Poaceae*) // Нов. сист. высш. раст. Л. 1985. Т. 22. С. 39–43.
- Пешкова Г.А. *Elymus* L. — Пырейник // Флора Сибири. *Poaceae*. Т. 2. Новосибирск, 1990. С. 17–32.
- Пробатова Н.С. Мятликовые, или злаки — *Poaceae* Barnh. (*Gramineae* Juss.) // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Т. 1. Л., 1985. С. 89–382.
- Пробатова Н.С. Род Пырейник — *Elymus* L. // Флора Российского Дальнего Востока. Доп. и изм. к изд. «Сосуд. раст. Советского Дальнего Востока» Т. 1–8 (1985–1996). Владивосток, 2006. С. 379–384.
- Хохряков А.П. Новые таксоны пырея из южной части Магаданской области // Бюл. Гл. бот. сада. 1978. Вып. 109. С. 24–29.
- Цвелев Н.Н. Обзор видов трибы *Triticeae* Dum. семейства злаков (*Poaceae*) во флоре СССР // Нов. сист. высш. раст. 1973. Т. 10. С. 19–59.
- Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л., 1976. 788 с.
- Цвелев Н.Н. О роде *Elymus* L. (*Poaceae*) в России // Бот. журн. 2008. Т. 93. № 10. С. 1587–1596.
- Agafonov A.V. The Principle of Recombination Gene Pools (RGP) and Introgression Gene Pools (IGP) in the Biosystematic Treatment of *Elymus* Species // Proc. 2nd Int. Triticeae Symp. (Logan, Utah, USA, 20–24 June 1994). 1994. P. 254–260.
- Bowden W.M., Cody W.J. Recognition of *Elymus sibiricus* L. from Alaska and the District of Mackenzie // Bulletin of the Torrey Botanical Club. 1961. Vol. 88. № 3. P. 153–155.
- Dewey D.R. Cytogenetics of *Elymus sibiricus* and its hybrids with *Agropyron tauri*, *Elymus canadensis* and *Agropyron caninum* // Bot. Gaz. 1974. Vol. 135. P. 80–87.
- Hodgson H.J. A new *Elymus* from Alaska // Rhodora. 1956. Vol. 58. P. 144–148.
- Hultén E., Fries M. Atlas of North European vascular plants: North of the tropic of Cancer. 1. Introduction. Taxonomic index to the maps 1–996. Koeltz Sci. Books, Königstein. 1986. P. 140–147.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. № 5259. P. 680–685.
- Linnaeus C. Species Plantarum. Laurentii Salvii, Holmiae. 1753. P. 83–84. <http://www.botanicus.org/title.aspx?bibid=b12069590>.
- Lu B.-R., Salomon B., Bothmer R. von. Interspecific hybridization with *Elymus confusus* and *E. dolichaterus*, and their genomic relationships (*Poaceae: Triticeae*) // Pl. Syst. Evol. 1995. Vol. 197. P. 1–17.