

СИСТЕМАТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ТАКСОНОВ

УДК [581.15+543.545+631.523]:582.542

Репродуктивная дифференциация *Elymus komarovii* (Poaceae) в связи с проблемой таксономической идентификации

Reproductive differentiation of *Elymus komarovii* (Poaceae) in connection with a problem of taxonomical identification

А. В. Агафонов¹, Е. В. Кобозева^{1,2}

A. V. Agafonov, E. V. Kobozeva

¹Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук,
г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, 630090, agalex@mail.ru

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050, ekobozeva87@mail.ru

Реферат. Изучались особенности репродуктивных взаимоотношений между биотипами *E. komarovii* из разных местообитаний в Южной Сибири и Монголии. Способность к рекомбинации генетического материала между биотипами *E. komarovii* зависит от географического происхождения. В популяциях Горного Алтая в пределах Республики Алтай редкий для вида признак «голые листовые пластинки» контролируется не менее чем двумя рецессивными аллелями разных генов. На примере некоторых морфологических признаков подтверждена возможность одноступенчатой рекомбинации генетического материала между *E. komarovii* и *E. transbaicalensis* через гибридизацию.

Summary. Traits of reproductive relationships between biotypes *E. komarovii* from Southern Siberia and Mongolia were studied. Ability to recombination of genetic material between biotypes *E. komarovii* depends on a geographical origin. In populations of Mountain Altai the rare character for the species “naked leaf blades” is controlled not less than two recessive alleles of different genes. On the example of bright morphological characters the possibility of a one-stage recombination of genetic material between *E. komarovii* and *E. transbaicalensis* by means of sexual hybridization was confirmed.

Введение

Род *Elymus* L. является широко распространенным, обширным по биоразнообразию, и по современным обобщенным обработкам содержит от 150 (Dewey, 1984; Barkworth et al., 2007) до 200 (Цвелев, 1991) таксонов видового ранга. Таким образом, *Elymus* – самый крупный род в трибе *Triticeae* Dum. семейства Poaceae Barnh. Большинство видов аллополиплоидного рода *Elymus* – факультативные самоопылители. Нередкие события межвидовой гибридизации и последующие процессы интрогрессии, в результате которых образуется большое число локальных интрогрессивных форм, приводят к разногласию систематиков и, как следствие, заметным сложностям в таксономии рода. Реальные факты значительно затрудняют четкое понимание вида и все чаще приводят к рассмотрению отдельных видовых комплексов с близкой морфологией, общим ареалом и экологией в составе одного таксона в широком понимании. Вместе с тем, многие вопросы специфичности, дифференциации и взаимоотношений таксонов остаются невыясненными.

Elymus komarovii (Nevski) Tzvelev распространен в горных районах Южной Сибири, Монголии, Казахстана и Северо-Западного Китая и произрастает преимущественно в лесном горном поясе и в непосредственно прилегающих экотопах альпийского пояса на высотах до 2500 метров, на лужайках, каменистых склонах, галечниках, среди кустарников (Цвелев, 1976; Пешкова, 1990; Цвелев, Пробатова, 2010). Впервые этот таксон был описан С.А. Невским как *Agropyron komarovii* Nevski на основе сборов В.Л. Комарова из Восточного Саяна (Невский, 1932). Вскоре он перенес этот вид в род *Roegneria* C. Koch под названием *R. komarovii* (Nevski) Nevski (Невский, 1934).

Далее таксон был включен Н.Н. Цвелевым (1968) в качестве самостоятельного вида в состав рода *Elymus*, но вскоре переведен в ранг подвида как *E. uralensis* subsp. *komarovii* (Nevski) Tzvelev (Цвелев, 1973). Однако, такая обработка не нашла широкой поддержки, и некоторые авторы продолжали признавать *E. komarovii* за самостоятельный вид (Черепанов, 1981; Пешкова, 1990). Это могло быть связано с тем, что

типовой материал *E. uralensis* с Южного Урала проявляет отчетливое сходство с широко распространенным *E. caninus* и отличается от последнего только короткошиповатыми нижними цветковыми чешуями (НЦЧ). Возможно, поэтому Н.Н. Цвелев (2008) восстановил *E. komarovii* в ранге самостоятельного вида секции *Goulardia* (Husnot) Tzvelev, подсекции *Subsecundi* (Nevski) Tzvelev.

Ранее было показано, что на территории Горного Алтая и Восточного Саяна между *E. komarovii* и морфологически близким видом *E. transbaicalensis* (Nevski) Tzvelev проходят интрогрессивные процессы (Герус, Агафонов, 2007а, б). Как следствие, в составе многих смешанных популяций появляются разные по морфологии и численности совокупности отклоняющихся форм (микрораспространения или отдельные особи), но типичные видовые формы из разных местообитаний только в незначительной степени отличаются друг от друга. Изучение гибридных растений *E. komarovii* × *E. transbaicalensis* в поколениях с одновременным электрофоретическим контролем показало, что в данной комбинации проходила ограниченная рекомбинация генетического материала, а не интрогрессия с обязательными возвратными скрещиваниями (Герус, 2007). Нельзя исключить, что особи, формально относимые к *E. transbaicalensis* и *E. komarovii*, но произрастающие вместе в локальных популяциях, образуют единую репродуктивную систему, в отличие от популяций одного вида, но произрастающие в разных отдаленных местообитаниях в течение многих поколений. Поэтому даже при частичной гибридизации численность гомозиготных особей в популяциях с преимущественным самоопылением всегда значительно выше, чем число особей, несущих гетерозиготный генотип.

При внутривидовой гибридизации *E. transbaicalensis* из разных точек ареала (Агафонов, 2004) уровень половой совместимости был выше у растений из одного географического региона (например, из разных популяций Горного Алтая или Красноярского края), и ниже у растений с существенной географической изоляцией (например, «биотип_{Горный Алтай} × биотип_{Красноярский край}»).

Цель данного исследования – выявить уровень репродуктивной совместимости между биотипами *E. komarovii* на территории Сибири и на примере пары альтернативных признаков «волосистая – шероховатая поверхность листовых пластинок (ЛП)» показать возможность оценки наследования диагностических признаков. Кроме того, представлены результаты изучения межвидового гибрида *E. transbaicalensis* × *E. komarovii*. Главной морфологической особенностью материнского биотипа *E. transbaicalensis* АКУ-0422 является признак «гладкие НЦЧ», сопряженный с признаком «мелкошиповатые членики колосковой оси (ЧКО)». Два этих признака не характерны для данного вида, но составляют основу для идентификации камчатского вида *E. kronokensis*.

Материалы и методы

В исследования были взяты отдельные образцы и популяционные выборки *E. komarovii*, собранные сотрудниками ЦСБС СО РАН в различных местообитаниях в пределах Южной Сибири и Монголии. Точки сбора природного материала приведены в таблице 1.

Гибридизацию растений проводили по разработанной экспресс-методике (Агафонов, 2004). Гибридность особей F₁ определяли по морфологическим маркерам. В вариантах гибридизации, где отцовские биотипы не имели доминантных маркеров, гибридность подтверждали методом SDS электрофореза по методике Laemmli (1970) с модификациями для анализа многолетних пшеницевых злаков (Агафонов, Агафонова, 1992). Семенную фертильность (СФ) растений определяли как отношение выполненных зерновок к общему числу цветков в колосе, исходя из этого оценивали уровень репродуктивной совместимости (Сс) биотипов (Агафонов, 1997; Agafonov, Salomon, 2002).

Результаты и обсуждение

При изучении внутривидовой гибридизации *E. komarovii* нами было проанализировано 18 комбинаций скрещивания биотипов из разных популяций Сибири и одной популяции из Монголии. Данные по семенной фертильности гибридов в поколениях F₁ и F₂ приведены в таблице 2. Из нее следует, что большинство выборочных биотипов из разных точек ареала вида имеют высокую репродуктивную совместимость и, следовательно, их можно отнести к единому рекомбинационному генпулу (РГП).

Для подтверждения гибридности растений в комбинациях 3, 4, 8, 13, 16, 17 изучали расщепление по родительским компонентам в семенах поколения F₂. Для этого брали по 3 зерновки с растений F₁ в сравнении с зерновками родительских форм. Как показано на рисунке, наличие отцовских компонентов в семенах F₂ и рекомбинация компонентов обоих родителей показало успешность проведения гибридизации и принадлежность биотипов к единому РГП. Особый интерес к этим гибридам был в первую очередь связан

Таблица 1

Происхождение образцов *E. komarovii*, взятых в гибридологический анализ

Код популяции (образца)	Местонахождение и автор сбора
<i>E. komarovii</i>	
AKU-9820; AKU-0409; AKU-0656	Респ. Алтай, Кош-Агачский р-н, предгорья Курайского хр., 10 км на сев. от пос. Чаган-Узун по Чуйскому тракту, лог Куюктанар, alt. 1776 м, N50°9.510' E88°18.735' (Д. Герус, А. Агафонов)
GAL-8425	Респ. Алтай, Улаганский р-н, Курайский хр., басс. р. Башкаус, устье р. Нижний Ильдугем (М. Данилов)
GUK-9103	Респ. Алтай, Усть-Канский р-н, центр. часть Канской котловины, лиственничный лес (Н. Ермаков)
ACH-8920	Респ. Алтай, Онгудайский р-н, 4 км на юго-восток по автодороге от перевала Чике-Таман, горная тропа от р. Б. Ильгумень (А. Агафонов)
GAR-0501	Респ. Бурятия, Окинский р-н, дол. р. Ока, правый приток р. Гарган, галечник у моста; alt. 1610 м, N52°5.947' E100°23.005' (Д. Герус, А. Агафонов) [точка 5]
ULZ-0503	Респ. Бурятия, Окинский р-н, галечник на р. Улзыта, (ранее р. Каштак), alt. 1595 м, N52°11.529' E100°20.171' (Д. Герус, А. Агафонов)
SBI-0509; SBI-9515; SBI-9517	Красноярский край, Западный Саян, Усинский тракт, разнотравный луг в пойме р. Билелиг; alt. 867 м, N52°20.600' E93°34.423' (Д. Герус, А. Агафонов)
TUV-9113	Респ. Тува, Туранский р-н, вост. часть Турано-Уюкской котловины, 4 км от устья р. Уюк, лиственничный лес (Н. Ермаков)
TUV-9568	Респ. Тува, Эрзинский р-н, Сев.-Зап. Сангилен, басс. р. Улар, 3 км вверх от места впадения в р. Эрзин (Н. Ермаков)
MUN-0608	Респ. Тува, Тоджинский р-н, оз. Мюн-Холь, тропа на границе смешанного леса; alt. 990 м, N 52°13.736' E 95°59.278' (А. Каракулов)
MON-9514	Монголия, хр. Хан-Хухэй на юг от оз. Убсу-Нур, ср. течение р. Мундехе (И. Артёмов)

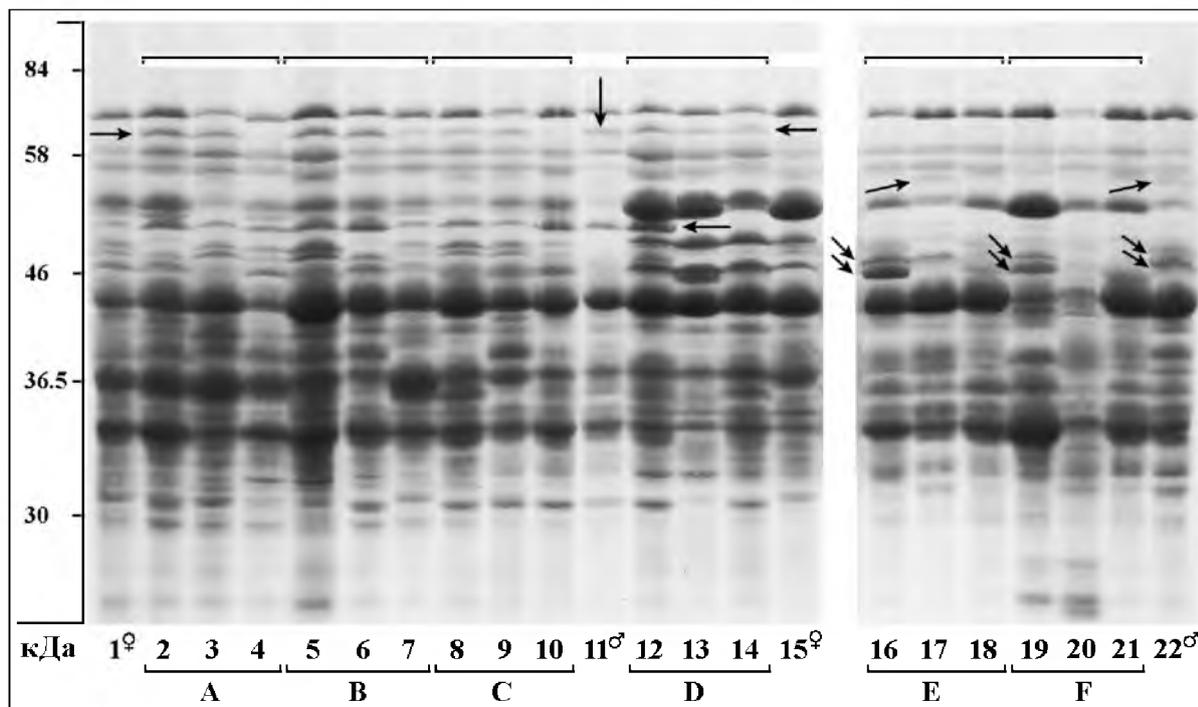


Рис. SDS-электрофореграмма белков эндосперма родительских биотипов и семян F₂ с гибридных растений F₁ при внутривидовых скрещиваниях *E. komarovii*. Родительские биотипы: 1. AKU-0656 (лог Куюктанар, респ. Алтай); 11. GAR-0501 (р. Гарган, Восточный Саян); 15. AKU-9820 (лог Куюктанар, респ. Алтай); 22. ULZ-0503 (р. Улзыта, Восточный Саян). Семена F₂ (по 3 зерновки с гибридного растения) в комбинациях скрещивания AKU-0656 × GAR-0501 (A, B, C), AKU-9820 × GAR-0501 (D) и AKU-0409 × ULZ-0503 (E, F). Полипептидные спектры отдельных зерновок в варианте +Me; кДа - ориентировочная шкала молекулярных масс. Стрелками указаны компоненты отцовских биотипов.

с тем, что они были образованы с участием биотипов GAR-0501 и ULZ-0503 из классического местообитания вида.

Наиболее высоким уровнем совместимости ($C_s = \alpha_1$), при котором происходит свободная рекомбинация генетического материала, характеризовались гибриды в комбинациях 1, 6, 14, 15, 18. Эти варианты скрещиваний были образованы не только биотипами с относительно близким расположением исходных популяций (GAL-8425 × GUK-9103), но и с включением биотипов из географически отдаленных местообитаний, как в комбинациях TUV-9113 × GUK-9103 и MUN-0608 × GAR-0501. Семенная фертильность (СФ) этих гибридов в F_1 составила от 47,7 до 81,8 %. Значительно более низкий уровень совместимости ($C_s = \alpha_2$) был отмечен у гибрида между биотипами из отдаленных точек ареала – Монголии (MON-9514) и юга Красноярского края (SBI-9515). Семенная фертильность этого гибрида (комбинация 10) составила только 4 полноценных зерна из 6 колосьев, взятых с трех растений F_1 , тогда как в F_2 гибрид оказался полностью стерильным. Единственный монгольский биотип MON-9514, проверенный в комбинации с биотипом TUV-9113 из северной части республики Тува, показал также довольно высокое значение совместимости на α_1 -уровне.

Поскольку гибриды F_1 в комбинации GAL-8425 × GUK-9103 показал значение СФ выше 60 %, была проведена оценка наследования различительного признака для этой пары биотипов. Материнское растение GAL-8425 обладало коротко-густоволосистыми ЛП, отцовское растение GUK-9103 имело голые коротко-шиповатые ЛП, что оценивается как относительно редкий признак для *E. komarovii*. Гибриды F_1 обладали визуально более редким опушением ЛП, чем материнский GAL-8425. В условиях климокамеры было выращено до стадии 5-го листа 53 растения F_2 , у которых фиксировалось проявление признака волосистости ЛП. С учетом предыдущих опытов и наблюдений за характером вариабельности морфологических признаков в поколении F_2 (Агафонов, 2004; Агафонов, 2008; Агафонов, Герус, 2008), визуально было определено 5 фенотипических классов, на которые можно подразделить все фенотипы выборки. При этом необходимо отметить, что эта процедура носила определенную долю субъективизма, поскольку четкие границы между

Таблица 2

Наивысшие значения семенной фертильности (СФ) внутривидовых гибридов *E. komarovii* и уровни репродуктивной совместимости C_s биотипов в поколениях F_1 и F_2

№ п/п	Комбинация скрещивания	Наивысшие значения семенной фертильности в поколениях, %				Уровень C_s
		F_1	N_{F_1}	F_2	N_{F_2}	
1	GAL-8425Гал × GUK-9103Гал	64.3	2	84.6	19	α_1
2	GAL-8425Гал × SBI-9517Кра	33.4	2	–	–	α_2
3	GUK-9103Гал × SBI-9517Кра	9.6	2	–	–	α_2
4	SBI-9517Кра × GUK-9103 Гал	15.6	2	88.7	3	α_2
5	SBI-9515Кра × АСН-8920 Гал	38.8	3	64.9	2	α_2
6	TUV-9113Тув × GUK-9103 Гал	48.9	2	62.2	4	α_1
7	TUV-9113Тув × SBI-9515Кра	16/8	2	2.8	4	$\alpha_2?$
8	TUV-9113Тув × MON-9514Монг	53.2	2	77.6	3	α_1
9	TUV-9568 Тув × GUK-9103Гал	9.9	3	67.8	5	α_2
10	MON-9514Монг × SBI-9515Кра	4/6	3	0	1	$\alpha_2?$
11	AKU-9820Гал × AUK-9803Гал	20.8	2	–	–	α_2
12	AKU-9820Гал × MUN-0608Тув	31.4	2	–	–	α_2
13	AKU-0409Гал × ULZ-0503Бур	24.5	2	–	–	α_2
14	MUN-0608Тув × GAR-0501Бур	59.6	4	–	–	α_1
15	MUN-0608Тув × AKU-0656Гал	81.8	1	–	–	α_1
16	AKU-9820Гал × GAR-0501Бур	15.9	1	–	–	α_2
17	AKU-0656Гал × GAR-0501Бур	22.6	4	–	–	α_2
18	SBI 0509Кра × MUN 0608Тув	47.7	2	–	–	α_1

N_{F_1} и N_{F_2} – число растений, проанализированных в F_1 и в F_2 соответственно;

(#) – дробью обозначено число зерновок всего (N) собранное с числа колосьев (M);

После инвентарных номеров указаны ориентировочные географические районы сбора: Гал – Горный Алтай; Кра – Красноярский край; Тув – респ. Тува; Бур – респ. Бурятия; Монг – Монголия

классами установить достаточно затруднительно. Ниже показан численный состав классов по степени волосистости верхних поверхностей ЛП: густо волосистые – 14; средне волосистые – 27; отдельные волоски ближе к концу ЛП – 5; почти голые (длинношиповатые) – 4; голые абсолютно – 3.

Такой характер расщепления при выделенных фенотипических классах не соответствует классическим формулам 1:2:1 при моногенном наследовании признака или 1:4:6:4:1 при дигенном, особенно если учесть небольшую численность выборки. Тем не менее, более правдоподобным видится дигенный характер наследования признака в том случае, если два гена обладают неодинаковым влиянием на фенотип. Наши наблюдения в популяциях вида по признаку опушения ЛП показали, что природная вариабельность тоже может быть описана пятью фенотипическими классами. Вместе с тем, с учетом возможной интрогрессии с близкородственными видами (в первую очередь, с *E. transbaicalensis*) общее число генных локусов и их аллелей, контролирующих признак, может быть весьма значительным. Другими словами, редкий для *E. komarovii* признак «голые листовые пластинки» контролируется не менее чем двумя рецессивными аллелями разных генов в гомозиготном состоянии.

Ранее были суммированы морфологические различия между *E. komarovii* и *E. transbaicalensis* в целом, а также приведены электрофоретические свидетельства межвидовой интрогрессии в пределах Горного Алтая (Герус, Агафонов, 2007а). Для ареала видов в Восточном Саяне таких свидетельств выявлено значительно меньше (Герус, Агафонов, 2007б). Одновременно следует отметить, что изменчивость Горно-Алтайских смешанных популяций *E. komarovii* и *E. transbaicalensis* нами зафиксирована, как более широкая, чем в Восточном Саяне. Так, в популяции АКУ (Курайский хр.) нами был собран образец *E. transbaicalensis* АКУ-0422, который отличался от типового материала абсолютно гладкими НЦЧ и мелкошиповатыми ЧКО. Для проверки возможности интрогрессии такого яркого признака был создан межвидовой гибрид в комбинации скрещивания АКУ-0422 × MUN-0608. Выращенное в условиях климокамеры растение F₁ было промежуточным по различительным признакам — длине остей НЦЧ, шиповатости НЦЧ и ЧКО, а также опушенности верхних поверхностей листовых пластинок (ЛП). То есть, растение соответствовало *E. transbaicalensis* var. *burjaticus* (Sipl.) Tzvelev. Часть пыльников гибрида были закрыты при созревании, что могло быть по причине нарушений в гаметогенезе из-за неполной гомологии геномов исходных видов. Было собрано 28 зерновок с пяти колосьев, что значительно ниже нормальной СФ родительских видов. Но это значение выше, чем в двух внутривидовых комбинациях скрещивания *E. komarovii* (табл. 1). Из 14 растений выборки F₂, выращенных на открытом грунте, три были полностью стерильны. Остальные 11 были в большей или меньшей степени фертильны, от 5 до 40 зерновок на колос.

В посев F₃ были взяты семена гетерозиготного растения (8), поскольку основной задачей было получение рекомбинантного биотипа, сочетающего признак длинных остей НЦЧ от биотипа *E. komarovii* MUN-0608 и аномальный признак гладкости НЦЧ от АКУ-0422. До стадии зрелости было выращено 9 растений, которые также показали расщепление по изучаемым признакам. Два растения сочетали признак “длинные ости НЦЧ” и “гладкие НЦЧ”. От растения F₃ также с номером (8), имевшим более высокое значение СФ = 38.6%, получена выборка 6 растений F₄, все из которых несли рекомбинантное сочетание признаков. В конечном результате нами получен репродуктивно стабильный морфотип, формально соответствующий описанию *E. karakabinicus* Kotuch. (Котухов, 1992).

Таким образом, подтверждается предположение о том, что при гибридизации между *E. komarovii* и *E. transbaicalensis* может проходить одноступенчатая рекомбинация наследственного материала, а не классическая интрогрессия с обязательными возвратными или нормализующими скрещиваниями, как было показано для *E. caninus* и *E. fibrosus* (Герус, Агафонов, 2006). В целом, такие варианты взаимоотношений между видами рода *Elymus* полностью соответствуют общему принципу рекомбинационных и интрогрессивных генпулов (Агафонов, 1997). С этих позиций становятся более понятными возможные пути происхождения морфологически отклоняющихся форм и локальных микропопуляций и даже некоторых новых видов рода.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Д. Е. Никоновой (Герус) – н. с. ЦСБС СО РАН, к. б. н., за помощь в проведении полевых и лабораторных исследований. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты № 11-04-00861, № 16-34-00505, № 16-34-50145.

ЛИТЕРАТУРА

Агафонов А. В. Принцип рекомбинационных (РГП) и интрогрессивных (ИГП) генпулов в биосистематике рода Пырейник (*Elymus* L.) Северной Евразии // Сиб. экол. журн., 1997. – Т. 4, № 1. – С. 81–89.

Агафонов А. В. Внутривидовая структура и репродуктивные отношения между *Elymus mutabilis* и *E. transbaicalensis* (Poaceae) в Южной Сибири с позиций таксономической генетики // Генетика, 2004. – Т. 40, № 11. – С. 1490–1501.

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. Биосистематическое исследование комплекса *Elymus macrourus* – *E. jacutensis* и критического таксона *E. irtutensis* (Triticeae: Poaceae) // Растительный мир Азиатской России, 2008. – № 2. – С. 20–32.

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. Моделирование и регистрация в эксперименте рекомбинационных процессов между *Elymus komarovii* и *E. transbaicalensis* // Перспективы развития и проблемы современной ботаники: Сб. науч. ст. по материалам I (III) Всероссий. мол. науч.-практ. конф. (17–21 октября 2007., г. Новосибирск). – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2007. – С. 310–314.

Герус Д. Е., Агафонов А. В. Моделирование интрогрессивных процессов между *Elymus fibrosus* и *E. caninus* (Poaceae) и их регистрация с помощью одномерного SDS-электрофореза // Генетика, 2006. – Т. 42, № 12. – С. 1405–1413.

Герус Д. Е., Агафонов А. В. Свидетельства межвидовой интрогрессии в смешанных популяциях *Elymus komarovii*, *E. transbaicalensis* (Triticeae: Poaceae) и некоторых морфологически близких видов Горного Алтая // Сиб. ботан. вестник: электронный журн., 2007а. – Т. 2, вып. 1. – С. 17–25. <http://www.csbg.nsc.ru/uploads/journal.csbg.ru/pdfs/i2.pdf>

Герус Д. Е., Агафонов А. В. Белки эндосперма — маркеры межвидовой интрогрессии в смешанных популяциях *Elymus komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. "kronokensis"* (Triticeae: Poaceae) Восточного Саяна // Сиб. ботан. вестник: электронный журн., 2007б. – Т. 2, вып. 2. – С. 33–42. <http://www.csbg.nsc.ru/uploads/journal.csbg.ru/pdfs/i3.pdf>

Котухов Ю. А. Новые виды рода *Elymus* (Poaceae) из Восточного Казахстана // Бот. журн., 1992. – Т. 77, № 6. – С. 89–93.

Невский С. А. К систематике рода *Agropyrum* Gaertn. // Изв. Бот. Сада АН СССР, 1932. – Т. 30, Вып. 5-