



Изменчивость ISSR-маркеров и оценка наследования диагностических признаков у StY-геномных видов *Elymus pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* (Poaceae: Triticeae)

Е.В. Кобозева^{1, 2}✉, С.В. Асбаганов¹, О.В. Дорогина¹, А.В. Агафонов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия

В настоящее время предлагаются к признанию три самостоятельных вида рода *Elymus* подсекции *Pendulini* в пределах России: *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus*. Диагностическими признаками для различения видов считаются наличие и типы трихом узлов стебля (УС) и нижних цветковых чешуй (НЦЧ), а также экологические условия произрастания. В Приморском крае и Республике Алтай нами обнаружен ряд смешанных популяций, в которых существует визуально непрерывная изменчивость по типу трихом НЦЧ: от голых и гладких до длинноволосистых. Кроме того, в Приморском крае найден ряд популяций, в которых совместно произрастают особи как с гладкими, так и с волосистыми УС. Изучен полиморфизм ISSR-маркеров среди выборочных образцов трех видов из разных точек ареала вместе с реперными видами *E. ciliaris* и *E. gmelinii*. Консенсусная дендрограмма, построенная по результатам использования ISSR-маркеров, показала отсутствие видовой специфичности у образцов подсекции *Pendulini*. Созданы гибриды между особями разных видов подсекции в шести комбинациях скрещиваний. У всех растений F₁ были нормально развитые открытые пыльники, семенная фертильность в разных комбинациях составляла от 8 до 89 %. В выборках F₂ отсутствовали стерильные особи и наблюдалось увеличение семенной фертильности до нормальных значений. Следовательно, три таксона формируют единый рекомбинационный генопул. Выявлено, что диагностические признаки контролируются одной парой аллелей по опушению УС и одной или двумя парами аллелей (в различных комбинациях скрещивания) по опушению НЦЧ. Данные признаки представляют собой нормальное проявление внутривидовой изменчивости. Предложено рассматривать виды *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* в качестве внутривидовых таксонов *E. pendulinus* s. l. в ранге разновидностей.

Ключевые слова: *Elymus*; таксономия; диагностические признаки; ISSR-маркеры; гибридизация; семенная фертильность.

Variability of ISSR markers and estimation of inheritance of diagnostic characters among StY-genome species of *Elymus pendulinus*, *E. brachypodioides* and *E. vernicosus* (Poaceae: Triticeae)

E.V. Kobozeva^{1, 2}✉, S.V. Asbaganov¹,
O.V. Dorogina¹, A.V. Agafonov¹

¹ Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Currently three species are recognized in Russia within the genus *Elymus* subsection *Pendulini*, namely, *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* and *E. vernicosus*. The degree and quality of lemma and stem node vestitures and ecology are considered important characters for species delineation. In Primorsky krai and Altai Republic we have found a number of mixed populations in which there is visually continuous variation in lemmas vestitures from being completely glabrous to densely puberulent or pilose. Additionally, there are a number of populations in Primorsky krai in which individuals having either smooth or pilous stem nodes grow together. A study of polymorphism of ISSR markers among selective accessions of three species from different locations was carried out together with the reference species *E. ciliaris* and *E. gmelinii*. The consensus dendrogram constructed by results of ISSR markers has shown no taxon specific patterns in accessions of the subsection *Pendulini*. Hybrids between the individuals of different species of the subsection in six cross combinations have been created. All F₁ plants had normally developed open anthers, seed fertility (SF) ranged from 8 % to 89 % in different combinations. In F₂ populations no sterile individuals or increase of SF up to normal values were observed. Hence, three taxa form a unified recombination gene pool. The diagnostic characters were found to be controlled by one pair of alternative alleles for glabrous vs. hairy stem nodes, and by one or two pairs of alleles in different cross combinations for glabrous vs. hairy

lemmas. These characters can be considered as normal inter- and/or intra-population variation. Therefore, *E. brachypodioides* and *E. vernicosus* need to be relegated to infraspecific rank within *Elymus pendulinus* s. l. as varieties.

Key words: *Elymus*; taxonomy; diagnostic features; ISSR markers; hybridization; seed fertility.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Кобозева Е.В., Асбаганов С.В., Дорогина О.В., Агафонов А.В. Изменчивость ISSR-маркеров и оценка наследования диагностических признаков у StY-геномных видов *Elymus pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* (Poaceae: Triticeae). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):135-145. DOI 10.18699/VJ17.232

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Kobozeva E.V., Asbaganov S.V., Dorogina O.V., Agafonov A.V. Variability of ISSR markers and estimation of inheritance of diagnostic characters among StY-genome species of *Elymus pendulinus*, *E. brachypodioides* and *E. vernicosus* (Poaceae: Triticeae). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):135-145. DOI 10.18699/VJ17.232

Проблема критериев таксона любого уровня и в первую очередь критериев вида остается актуальной для эволюционной биологии в целом и особенно для систематики дикорастущих растений. По мнению К.М. Завадского (1968), развившего учение о виде Н.И. Вавилова, характерными признаками, присущими всем видам, являются: численность, дискретность, экологическая и географическая определенность, многообразие форм, целостность и внутренняя структура, единая наследственная основа и эволюционное развитие в виде самостоятельной филогенетической ветви, воспроизводимость, устойчивость существования в природе. Идентифицировать вид только с какой-либо одной позиции было бы ошибочным, поскольку среди перечисленных признаков нет ни одного, который можно было бы использовать как единственный, абсолютный видовой критерий (Завадский, 1968). При изучении популяционной и таксономической структуры, происхождения и эволюции видов необходимо опираться на комплекс признаков и все доступные видовые критерии – морфологический, географический, экологический, биохимический, репродуктивный, генетический и др. (Тахтаджян, 1970).

В последние годы вопрос самостоятельности (обособленности) таксонов видового и подвидового рангов в ботанике становится особенно актуальным. Накопление множества данных, извлекаемых из гербарного материала традиционными методами (сравнительно-морфологическим и эколого-географическим), а также размытость критериев вида ведут к разработке все более субъективных оценок диагностической значимости выявляемых признаков (Агафонов, 2004). Если проанализировать критерии, на основании которых были признаны новые виды рода *Elymus* L. в пределах России за последние десятилетия (Цвелёв, 2008; Цвелёв, Пробатова, 2010), то среди них практически не упоминается репродуктивный критерий (с учетом механизмов изоляции и их последствий в поколениях), так же как какие-либо генетические, цитогенетические или биохимические критерии. По данным Н.Н. Цвелёва и Н.С. Пробатовой (2010), на территории России в составе рода *Elymus* секции *Gouldardia* (Husn.) Tzvelev, подсекции *Pendulini* (Nevski) Tzvelev существуют три близкородственных, но самостоятельных вида: *E. pendulinus* (Nevski) Tzvelev, *E. brachypodioides* (Nevski) Peschkova и *E. vernicosus* (Nevski ex Grubov) Tzvelev. Критериями для выделения этих видов являются их морфологические различия и эколого-географические особен-

ности произрастания. По мнению авторов, *E. pendulinus* распространен в Приморском крае и в бассейне Среднего Амура и представлен главным образом лесными растениями. *E. brachypodioides* приурочен к открытым каменистым местообитаниям юга Сибири от Алтая до Читинской области, с восточной границей ареала в Амурской области, низовье Амура и в Ханкайском районе Приморского края. Наиболее ксерофитный вид *E. vernicosus* в основном распространен в полупустынных районах Центральной Азии, на территории России вид встречается в пограничных районах Горного Алтая, Забайкальского края и Республики Бурятия (Цвелёв, 2008).

Elymus pendulinus, согласно последнему диагнозу (Цвелёв, Пробатова, 2010), отличается от видов *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* наличием жестких щетинок по бокам и в верхней части нижних цветковых чешуй (НЦЧ) и обычно голыми, реже коротковолосистыми узлами стебля (УС). У видов *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* НЦЧ только с шипиками, в верхней части без жестких щетинок, при этом *E. brachypodioides* отличается от *E. vernicosus* наличием коротких волосков на УС, поскольку у последнего они голые. В то же время нами обнаружено, что в пределах дальневосточных фитоценозов существуют особи с различными диагностическими признаками – как с голыми УС, так и с волосистыми (Кобозева и др., 2012). Так, в некоторых гетерогенных популяциях Приморского края были найдены образцы, которые по морфологическим признакам могут быть отнесены ко всем трем видам: *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus*, а в популяциях Горного Алтая – к *E. pendulinus* и *E. vernicosus*. Кроме того, в популяциях Южного Приморья и Горного Алтая обнаружены формы с разным проявлением признака опушения НЦЧ: голые и гладкие, безреснитчатые, длиннощетиныстые с ресничками, а также все переходные фенотипы. По признаку опушения УС в некоторых смешанных популяциях Южного Приморья найдены особи как с голыми, так и с волосистыми в разной степени узлами, в том числе с полуопушенными. В поисках наиболее стабильных признаков, помимо диагностических, нами была изучена изменчивость ряда морфологических признаков (Кобозева и др., 2012), но признаков, которые было бы возможно применять как ключевые для подразделения на отдельные виды, не найдено. Относительно экологической приуроченности каждого из видов мы наблюдали следующее: микропопуляции и отдельные особи, соответствующие по морфотипам *E. pendulinus* и *E. brachypodi-*

oides, в Южном Приморье чаще всего занимали границы лесов и кустарников или нарушенные антропогенные местообитания – обочины дорог и прочие урбанизированные территории. Среди горно-алтайских популяций большинство особей, обитающих во влажных местах, формально следует отнести не к *E. brachypodioides*, а к *E. vernicosus* (гладкие НЦЧ и УС). Образцы *E. vernicosus* были обнаружены в лесных фитоценозах южных районов Бурятии и провинции Китая (Внутренней Монголии), так же как образцы *E. brachypodioides* с гладкими НЦЧ и опушенными УС – в Забайкальском крае.

Для понимания взаимосвязи генотипической и фенотипической изменчивости необходимо изучение генетического сходства между морфотипами с учетом экологических особенностей произрастания и репродуктивных свойств изучаемых таксонов. Если посмотреть на распространение видов *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* через призму «мозаичности фитоценозов» (Работнов, 1972; Миркин, Розенберг, 1978), то можно обнаружить отчетливую экологическую приуроченность этих видов согласно правилам эпизодической и антропогенной мозаичности. Формированию мозаичности способствуют относительно короткий срок жизни (два-три года) особей этих трех видов, а также семенной способ размножения путем автогамии. В результате растения не нуждаются в опылителях и проявляют высокую вариативность в численности микропопуляций, а также в местонахождениях отдельных адвентивных особей. Как правило, популяции с высокой численностью встречаются редко и на нарушенных местообитаниях существуют временно, а отдельные особи можно встретить практически в любом месте в пределах общего ареала видов.

Таким образом, нами установлено, что каждый из трех рассматриваемых видов может занимать в пределах их ареалов различные экологические ниши. Это позволяет предполагать, что *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* могут быть морфотипами одного крупного полиморфного таксона видового ранга без выраженной экологической приуроченности. По нашему мнению, виды *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* образуют единый рекомбинационный генпул, в котором присутствует определенный набор аллельных генов, контролирующих разные морфологические типы. Вероятно, распределение частот аллелей в отдельных частях ареала может существенно различаться. Для понимания взаимоотношений этих морфотипов необходимо провести более глубокие комплексные исследования, включающие помимо классических методов ботаники (сравнительно-морфологического и эколого-географического) современные методы экспериментальной биологии. Одним из современных методов, позволяющих выявить признаки специфичности и генетического полиморфизма близкородственных таксонов, является молекулярно-генетический анализ изменчивости межмикросателлитных последовательностей ДНК (inter-simple sequence repeat – ISSR). Другой эффективный метод для изучения уровней родства растений – межвидовая гибридизация или гибридизация особей, различающихся рядом морфологических признаков. Ранее на примере некоторых видов рода *Elymus* было показано, что дифференциация по уровням скрещиваемо-

сти особей является важным показателем микроэволюционных событий, и этот принцип можно использовать для выяснения уровней родства между близкородственными таксонами (Agafonov, Salomon, 2002).

Цель данного исследования – уточнить микроэволюционные взаимоотношения между видами *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* с помощью молекулярно-генетического и гибридологического анализов.

Материал и методы

Материалом для исследований служили отдельные образцы и популяционные выборки из различных местообитаний Приморского края, Горного Алтая, Бурятии, Забайкальского края и КНР. Для ISSR-анализа в качестве реперного был привлечен образец рода *Leymus* Hochst. из Северо-Восточного Казахстана. Кроме того, для сравнения, помимо исследуемой группы образцов, были взяты образцы видов из секции *Gouldardia* (Husn.) Tzvelev – *E. gmelinii* (Ledeb.) Tzvelev и *E. ciliaris* (Trin.) Tzvelev. Точки сбора природного материала приведены в табл. 1.

Молекулярно-генетический анализ изменчивости межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR-анализ) проведен с применением праймеров (табл. 2), успешно использованных ранее для маркирования видов рода *Elymus* L. (Кобозева и др., 2015). Для количественной оценки полиморфизма маркеров и определения уровня дивергенции между изученными генотипами полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие ПЦР-фрагментов одинакового размера рассматривалось как состояние 1 и 0. Для статистической обработки данных использовали пакет программ TREECON (version 1.3b) (van de Peer, de Wachter, 1994). Генетические дистанции рассчитывали по методу (Nei, Li, 1979). Для построения дендрограмм применяли метод Neighbor-Joining (NJ) (Nei, 1987), расчет бутстреп-индексов проводили на 100 псевдорепликациях.

Родительские биотипы для гибридизации подбирали на основании различающихся морфологических признаков (табл. 3). Кроме диагностических признаков (опушение НЦЧ и УС) были учтены признаки опушения листовых пластинок (ЛП) верхних листьев и опушение влагалищ нижних листьев. Растения для гибридизации выращивали на коллекционном участке или в климокамере ЦСБС из семян дикорастущих экземпляров, собранных в разных точках ареала. В результате выполнены скрещивания в шести комбинациях.

Гибридизацию растений проводили по ранее разработанной экспресс-методике (Агафонов, 2004). Главным отличием методики от традиционной и преимуществом (Lu, Bothmer, 1990) является стимуляция естественного раскрытия цветков и одновременное удаление еще не лопнувших пыльников. Применение данной методики дает более надежные результаты, поскольку не требует предварительной эмаскуляции нежных незрелых цветков и ведет к повышению эффективности гибридизации.

Семенную фертильность (СФ) растений определяли как отношение выполненных зерновок к общему числу цветков в колосе. Показатели фертильности определяли не менее чем с трех хорошо развитых колосьев, из которых

Таблица 1. Координаты (WGS-84) местонахождений образцов комплекса *E. pendulinus* из Приморского и Алтайского краев и реперных видов из разных местонахождений

Код образца*	Координаты местонахождения, авторы сбора**
<i>E. pendulinus</i>, Приморский край	
SHA-0843	Окрестности г. Владивостока, alt. 71 м, N 43°12.276' E 132°9.047' [1, 4]
VBG-1105	Окр. г. Владивостока, alt. 168 м, N 43°13.091' E 131°59.048' [1, 2]
VSE-1018	Окр. г. Владивостока, alt. 3 м, N 43°13.169' E 131°57.330' [1]
VOK-0738	Окр. г. Владивостока, alt. 7 м, N 43°14.10' E 132°0.19' [1]
VOK-1015	Окр. г. Владивостока, alt. 8 м, N 43°13.94' E 131°59.95' [1]
SAD-0841	Окр. г. Владивостока, alt. 14 м, N 43°15.850' E 132°1.723' [1]
SAD-0842	Окр. г. Владивостока, alt. 6 м, N 43°15.943' E 132°1.103' [1]
SAD-1011	Окр. г. Владивостока, alt. 26 м, N 43°15.734' E 132°2.483' [1]
GTS-1101	Уссурийский р-н, alt. 121 м, N 43°41.650' E 132°09.324' [1, 2]
GTS-1102	Уссурийский р-н, alt. 123 м, N 43°41.617' E 132°09.521' [1, 2]
USS-0720	Окр. г. Уссурийска, alt. 49 м, N 43°51.23' E 131°57.60' [1, 4]
<i>E. brachypodioides</i>, Приморский край	
ZAR-0746	Хасанский р-н, окр. пос. Зарубино, alt. 5 м, N 42°38.341' E 131°04.578' [1, 3]
MES-0721	Хасанский р-н, окр. пос. Андреевка, alt. 38 м, N 42°37.306' E 131°08.353' [1, 3]
AND-1107	Хасанский р-н, окр. пос. Андреевка, alt. 38 м, N 42°38.067' E 131°08.179' [1, 2]
SLA-1123	Окр. г. Славянка, alt. 38 м, N 42°52.052' E 131°23.002' [1, 2]
RUS-0716	Остров Русский, alt. 28 м, N 43°00.894' E 131°53.415' [1, 3]
RUS-0732	
VBG-0722	Окр. г. Владивостока, alt. 169 м, N 43°13.137' E 132°59.359' [1, 2]
VLA-0719	Окр. г. Владивостока, alt. 17 м, N 43°13.686' E 132°00.035' [1]
BKA-0921	Окр. г. Большой Камень, alt. 41 м, N 43°7.301' E 132°25.083' [1]
<i>E. vernicosus</i>, Приморский край	
SAD-1002	Окр. г. Владивостока, alt. 26 м, N 43°15.734' E 132°2.483' [1]
<i>E. pendulinus</i>, Горный Алтай	
CHE-1022–CHE-1028	Чемальский р-н, окр. пос. Чемал, трансекта от точки alt. 438 м, N 51°23.919' E 86°00.112' до точки alt. 434 м, N 51°23.533' E 86°00.197' [2, 3]
AUS-1015	Шебалинский р-н, окр. пос. Усть-Сема, alt. 345 м, N 51°38.371' E 85°45.384' [1, 2]
<i>E. vernicosus</i>, Горный Алтай	
CHE-1031, CHE-1032, CHE-1034, CHE-1043	Чемальский р-н, окр. пос. Чемал, трансекта от точки alt. 438 м, N 51°23.919' E 86°00.112' до точки alt. 434 м, N 51°23.533' E 86°00.197' [2, 3]
CHE-1044	Чемальский р-н, окр. пос. Чемал, alt. 457 м, N 51°23.481' E 86°00.116' [1, 2]
CHE-1066	Чемальский р-н, окр. пос. Чемал, alt. 391 м, N 51°23.476' E 86°00.127' [1, 2]
Реперные образцы	
CHI-0803	<i>E. brachypodioides</i> , Забайкальский край, окр. г. Нерчинска, alt. 690 м, N 51°56.574' E 116°33.634' [5]
BBI-1114	<i>E. vernicosus</i> , Республика Бурятия, окр. пос. Бичура, alt. 710 м, N 50°32.458' E 107°37.216' [1, 2]
CIM-1133	<i>E. vernicosus</i> , КНР, Внутренняя Монголия, alt. 1589 м, N 42°25.991' E 115°42.971' [5]
VBG-0844	<i>E. ciliaris</i> , окр. г. Владивостока, alt. 169 м, N 43°13.091' E 131°59.048' [1, 4]
MES-1111	<i>E. ciliaris</i> , Приморский край, Хасанский р-н, alt. 93 м, N 42°37.045' E 131°8.650' [1, 2]
BKA-0962	<i>E. gmelinii</i> , Приморский край, окр. г. Большой Камень, alt. 41 м, N 43°7.513' E 132°25.133' [1]
ALK-0678	<i>E. gmelinii</i> , Республика Алтай, Усть-Коксинский р-н, alt. 1476 м, N 50°45.75' E 84°55.38' [3]
KAZ-2011	<i>Leymus sp.</i> , Северо-Восточный Казахстан [3]

* Жирным шрифтом выделены коды образцов, включенных в гибридизацию.

** Авторы сбора: [1] – А.В. Агафонов, [2] – Е.В. Кобозева, [3] – Д.Е. Никонова (Герус), [4] – М.А. Агафонова, [5] – О.А. Аненхонов.

Таблица 2. Праймеры, использованные для изучения ДНК-полиморфизма образцов рода *Elymus*

Наименование праймера	Нуклеотидная последовательность 5'–3'	Температура отжига праймера (T _a), °C	Общее число амплифицируемых фрагментов	Размер фрагментов ДНК, п. н.
17899B	(CA) ₈ GG	47	47	350–1400
814	(CT) ₈ TG	51	67	250–1700
844A	(CT) ₈ AC	51	45	350–1500
M2	(AC) ₈ YG*	56	72	300–2000
HB14	(CTC) ₃ GC	41	40	450–1700
HB12	(CAC) ₃ GC	42	51	450–1700

* Y = C или T.

Таблица 3. Морфологическая характеристика родительских образцов, составляющих комбинации скрещиваний

№ п/п	Опушение НЦЧ	Опушение узлов стебля	Опушение ЛП верхних листьев	Опушение влагалищ нижних листьев
<i>E. brachypodioides</i> MES-0721 (1) × <i>E. pendulinus</i> USS-0720 (2)				
1	Голые, по бокам короткие единичные щетинки	Волосистые	Голые	Голые
2	По бокам длиннощетинистые	Волосистые	Голые, ближе к кончику волосистые	Голые
<i>E. brachypodioides</i> ZAR-0746 (3) × <i>E. pendulinus</i> SAD-0842 (4)				
3	Голые, безреснитчатые	Волосистые	Голые	Голые
4	Длинноволосистые, длиннореснитчатые	Голые	Длинно-густоволосистые	Волосистые
<i>E. brachypodioides</i> ВКА-0921 (5) × <i>E. pendulinus</i> SAD-0842 (6)				
5	Голые, по бокам единичные щетинки, безреснитчатые	Волосистые в верхней части	Голые	Голые
6	Длинноволосистые, длиннореснитчатые	Голые	Длинно-густоволосистые	Волосистые
<i>E. brachypodioides</i> VLA-0719 (7) × <i>E. pendulinus</i> VOK-0738 (8)				
7	Редко мелкошиповатые по жилкам, по бокам короткощетинистые, с редкими ресничками	Волосистые	Голые	Волосистые, реснитчатые
8	Редко длинноволосистые, длиннореснитчатые	Голые	Волосистые	Голые
<i>E. pendulinus</i> AUS-1015 (9) × <i>E. brachypodioides</i> VBG-0722 (10)				
9	Длинноволосистые, длиннореснитчатые	Голые	Голые	Голые
10	Голые, по бокам единичные щетинки, безреснитчатые	Волосистые	Редковолосистые	Голые
<i>E. vernicosus</i> CHE-1044 (11) × <i>E. pendulinus</i> AUS-1015 (12)				
11	Голые, безреснитчатые	Голые	Голые	Голые
12	Длинноволосистые, длиннореснитчатые	Голые	Голые	Голые

учитывалось наивысшее значение СФ. Репродуктивную совместимость генотипов (Cs) с подразделением на α1- и α2-уровни определяли согласно (Агафонов, 1997; Агафонов, Salomon, 2002) с позиций принципа рекомбинационных и интрогрессивных генпулов. Оценку наследования морфологических признаков проводили на выборках растений гибридов F₂, выращенных на открытом участке ЦСБС. Соответствие расщепления гибридов по фенотипу моно- и дигенному контролю признаков проверяли по критерию χ² (хи-квадрат) (Лобашев, 1967).

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетический анализ

Для выявления признаков специфичности и генетического полиморфизма у *E. pendulinus*, *E. brachypodioides*, *E. vernicosus* нами использовался анализ изменчивости межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR). При сравнении ISSR-профилей, полученных с помощью шести эффективных праймеров (17899B, 814, 844A, M2, HB14, HB12), был выявлен высокий полиморфизм меж-

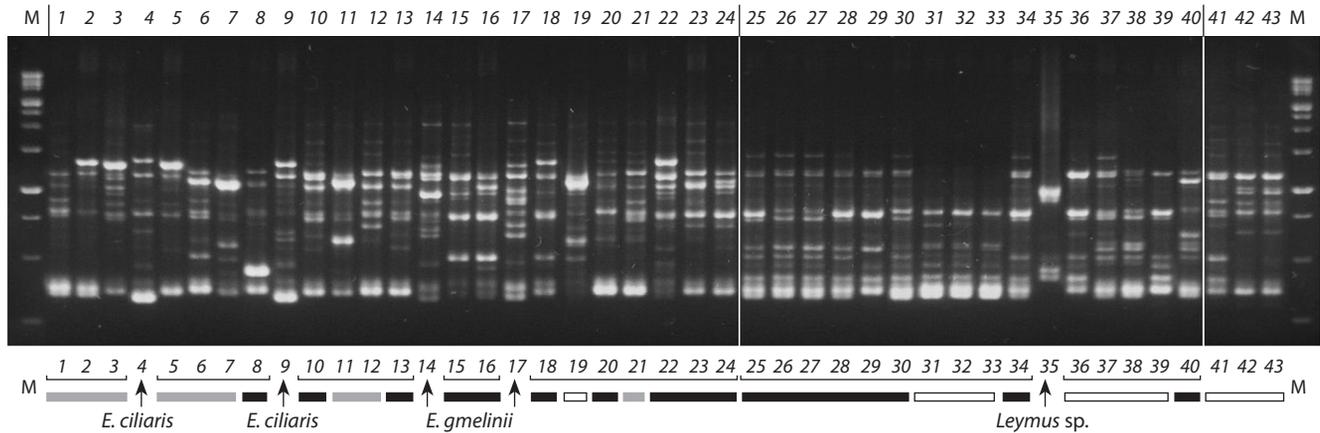


Рис. 1. ISSR-вариабельность образцов *E. pendulinus* (обозначены черным цветом), *E. brachypodioides* (серый цвет), *E. vernicosus* (белый) и реперных видов *E. ciliaris* и *E. gmelinii* при использовании праймера M2. 1–24 – Приморский край; 25–40 – Республика Алтай; 41 – Республика Бурятия; 42 – Забайкальский край; 43 – КНР, Внутренняя Монголия.

1 – ZAR-0746; 2 – MES-0721; 3 – AND-1107; 4 – *E. ciliaris* VBG-0844; 5 – SLA-1103; 6 – RUS-0716; 7 – RUS-0732; 8 – SHA-0843; 9 – *E. ciliaris* MES-1111; 10 – VBG-1105; 11 – VBG-0722; 12 – VLA-0719; 13 – VSE-1018; 14 – *E. gmelinii* BKA-0962; 15 – VOK-0738; 16 – VOK-1015; 17 – *E. gmelinii* ALK-0678; 18 – SAD-0841; 19 – SAD-1002; 20 – SAD-1011; 21 – BKA-0921; 22 – GTS-1101; 23 – GTS-1102; 24 – USS-0720; 25 – CHE-1022; 26 – CHE-1023; 27 – CHE-1024; 28 – CHE-1025; 29 – CHE-1027; 30 – CHE-1028; 31 – CHE-1031; 32 – CHE-1032; 33 – CHE-1034; 34 – CHE-1040; 35 – *Leymus* sp.; 36 – CHE-1043; 37 – CHE-1044; 38 – CHE-1066; 39 – AUS-1002; 40 – AUS-1015; 41 – BBI-1114; 42 – CHI-0803; 43 – CIM-1133.

микросателлитных последовательностей ДНК у исследованных видов. Все 322 амплифицируемых фрагмента с длинами, варьирующими в диапазоне от 250 до 2000 пар нуклеотидов, были полиморфны. Наибольшее число ISSR-фрагментов (72) получено при использовании праймера M2 – (AC)₈YG, а наименьшее (40) – при использовании праймера HB14 – (CTC)₃GC. С помощью праймера M2 были выявлены наибольшие различия между приморскими и алтайскими образцами, независимо от их формальной видовой принадлежности (рис. 1).

Консенсусная дендрограмма, построенная по результатам использования шести праймеров, подтвердила наши предположения о взаимоотношениях данных видов (рис. 2). В целом образцы распределились по географическому принципу. Единственным труднообъяснимым фактом является то, что от всех образцов значительно обособились три образца *E. vernicosus* алтайского происхождения. Наибольшее генетическое сходство обнаружено у образцов из смешанных популяций, где чаще произрастают близкородственные особи с одинаковыми морфологическими признаками. Вместе с тем попарно группировались образцы *E. pendulinus* и *E. vernicosus* из Горного Алтая. В Приморском крае значительное генетическое сходство обнаружено между образцами, относящимися к разным видам: *E. pendulinus* группируется с *E. brachypodioides* и *E. vernicosus*. Кроме того, общую кладу с образцами из Приморского края сформировали образцы *E. vernicosus* из Забайкальского края и Китая.

Спектры привлеченных видов *E. gmelinii* и *E. ciliaris* хорошо отличались от видов подсекции *Pendulini*. Образец рода *Leymus* Hochst., взятый в качестве реперного (outgroup) для укоренения дендрограммы, достоверно отделился от изучаемой группы видов (бутстреп-индекс равен 100).

В результате ISSR-анализа выявлена высокая дифференциация образцов из Приморского края, несколько

меньшие различия установлены среди горно-алтайских образцов (см. рис. 1 и 2). Вероятно, это связано с тем, что данные таксоны распространены в Приморском крае значительно шире и представлены в природных сообществах гораздо большим числом микропопуляций, чем в Горном Алтае.

Наряду с отмеченным полиморфизмом приморских и горно-алтайских выборок, выявлены признаки специфичности, вероятно, обусловленные географической изоляцией в течение многих поколений. При этом на дендрограмме (см. рис. 2) не выражено сколько-нибудь заметной корреляции между диагностическими признаками и генетическим расстоянием между образцами подсекции *Pendulini*. Такое распределение образцов, безусловно, свидетельствует о том, что виды *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* являются близкородственными. Тем не менее данные по вариабельности любых молекулярных маркеров необходимо подтверждать прямыми гибридологическими опытами.

Гибридизация и оценка наследования диагностических признаков

С целью выяснения репродуктивных отношений близкородственных таксонов нами создана серия гибридов между особями видов *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus*. Ранее было неоднократно показано, что природные растения самоопыляющихся видов рода *Elymus* гомозиготны по многим генам, даже если растут в составе гетерогенных популяций. Можно было бы ожидать, что хазмогамный тип цветения, характерный для большинства видов *Elymus*, должен приводить к перекрестному опылению с высокой частотой. Однако в норме самоопыление обеспечивается рядом факторов (Агафонов, 2007): 1) достаточным количеством собственной пыльцы, которая созревает в цветке одновременно с женскими гаметофитами; 2) отсутствием генетических систем само-

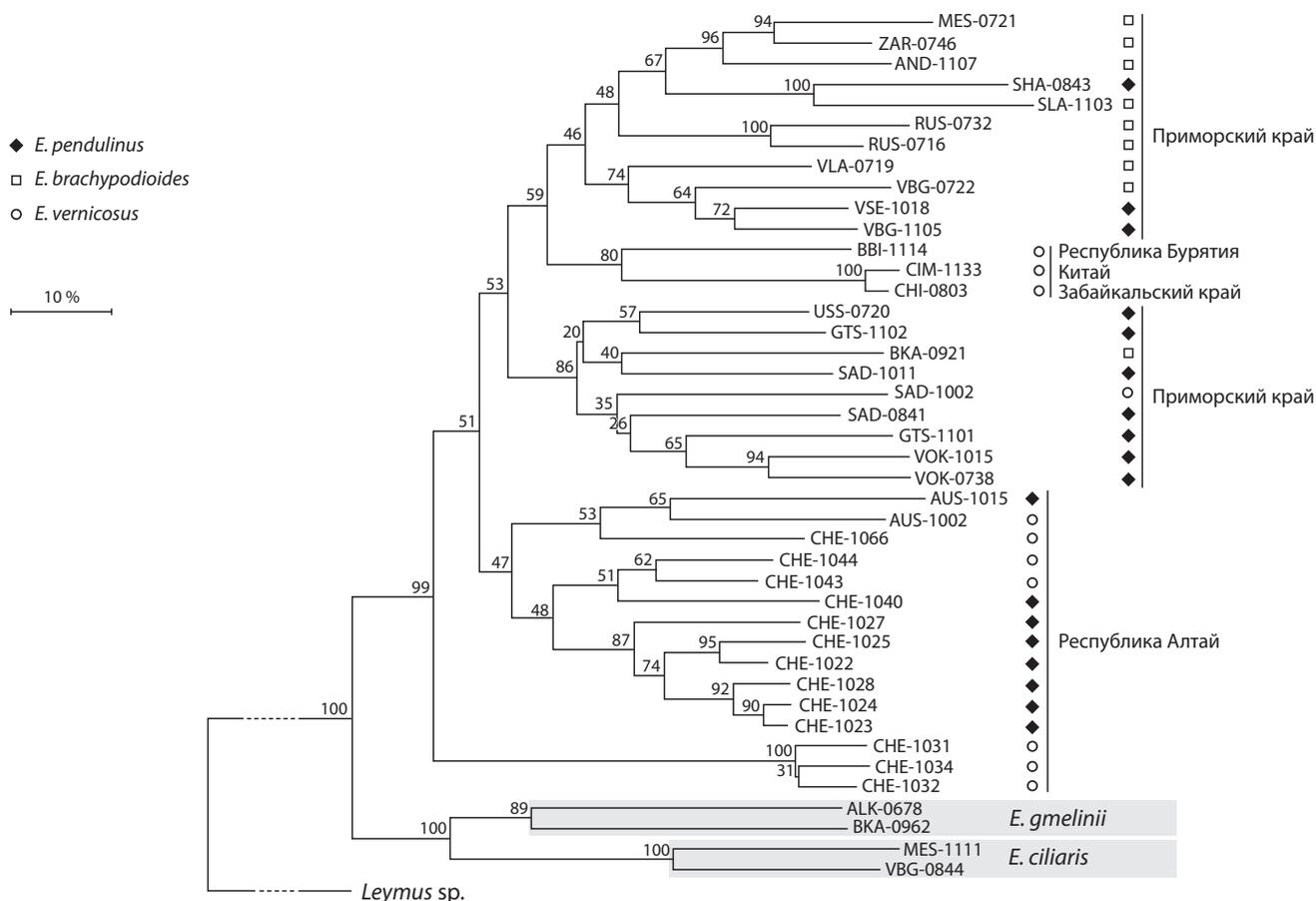


Рис. 2. Консенсусная NJ-дендрограмма, построенная по результатам использования шести ISSR-праймеров с числовыми значениями бутстреп-поддержки.

несовместимости, функционирующих на презиготических стадиях образования зародышей; 3) аллотетраплоидной природой генома, обеспечивающей при самоопылении необходимый уровень гетерозиготности по большому числу жизненно важных генетических систем.

Поэтому уровень гетерозиготности растений в популяциях довольно низок, а число межвидовых гибридов даже в смешанных местообитаниях относительно невелико. По данным электрофоретического анализа белков эндосперма уровень гетерозиготности составляет от 0 до 2 % (Kostina et al., 1998; Агафонов, Баум, 2000; Агафонов и др., 2008).

Небольшие выборки родительских растений, выращенные для гибридизации (3–5 особей), также не показали расщепления по маркерным признакам. Взятые в гибридизацию родители различались в парах по разным наборам признаков. При этом нами учитывались все наблюдаемые признаки, как диагностические, так и потенциально значимые в таксономии рода. Большее количество данных по различным морфологическим признакам позволяет более детально рассматривать сходство и различия изучаемых видов.

Результаты межвидовой гибридизации в шести комбинациях скрещивания показали высокую репродуктивную совместимость этих видов. Все гибридные растения F_1 обладали нормально развитыми пыльниками (рис. 3) и

относительно высокими значениями семенной фертильности (табл. 4). Репродуктивная совместимость (Cs) большинства биотипов с разной видовой принадлежностью соответствует уровню α_1 и свидетельствует о свободной рекомбинации генетического материала. Условной границей между α_1 - и α_2 -уровнями совместимости было принято значение СФ = 40 % (Агафонов, 1997).

В комбинации скрещивания биотипов из отдаленных популяций Приморья и Горного Алтая (*E. pendulinus* AUS-1015 \times *E. brachypodioides* VBG-0722) обнаружены более низкие значения СФ, так же как в комбинации биотипов из Приморского края (*E. brachypodioides* ВКА-0921 \times *E. pendulinus* SAD-0842). Совместимость родительских биотипов в данных скрещиваниях соответствует уровню α_2 (ограниченная рекомбинация генетического материала).

Анализ расщепления альтернативных признаков гибридов в шести комбинациях скрещивания показал, что моногенно наследуются следующие признаки (табл. 5): наличие ресничек НЦЧ, опушение наружной поверхности влагалищ нижних листьев (НПВНЛ), опушение УС, опушение верхней стороны ЛП перед колосом (флаговый лист). Признак опушения НЦЧ у разных гибридов наследуется то по моногенному, то по дигенному типу. Это объясняется тем, что родительские пары могут различаться как по одному аллелю в гомозиготном состоянии, так и по

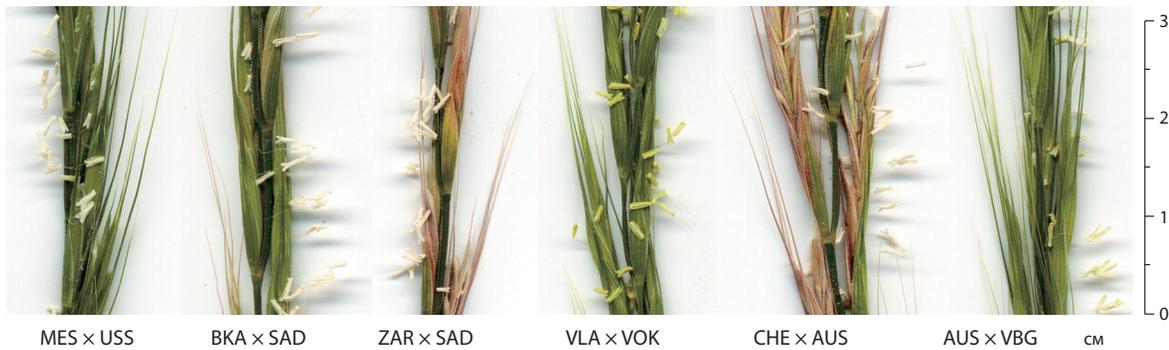


Рис. 3. Фрагменты колосьев гибридов F₁ с открытыми пыльниками.

Таблица 4. Наивысшие значения семенной фертильности гибридов и уровни репродуктивной совместимости биотипов *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* в поколениях F₁ и F₂

№ п/п	Комбинация скрещивания	Наивысшие значения СФ в поколениях, %				Уровень Cs
		F ₁	N _{F₁} *	F ₂	N _{F₂} *	
1	MES-0721 brach × USS-0720 pend	78.8	3	92.4	80	α1
2	VLA-0719 brach × VOK-0738 pend	75.9	1	84.2	72	α1
3	ZAR-0746 brach × SAD-0842 pend	43.0	1	75.0	43	α1
4	BKA-0921 brach × SAD-0842 pend	18/5**	2	73.6	14	α2
5	AUS-1015 pend × VBG-0722 brach	98/18**	2	72.2	21	α2
6	CHE-1044 verni × AUS-1015 pend	89.0	2	89.8	78	α1

* Число растений, проанализированных в F₁ и в F₂ соответственно.

** Дробью (N/M) обозначено общее число зерновок (N), собранное с числа колосьев (M).

двум, согласно схемам AAbb × aabb или AABB × aabb. Поскольку одни и те же признаки выражались у родительских особей в разной степени, их распределение в F₂ также различалось. Рассмотрим подробнее результаты расщепления признаков каждой комбинации скрещивания.

В поколении F₂ у гибридов комбинации (1) *E. brachypodioides* MES-0721 × *E. pendulinus* USS-0720 обнаружено расщепление по наличию трихом на НЦЧ (см. табл. 5). По анализируемому признаку растения можно разделить на два класса: шиповатые и щетинистые по бокам НЦЧ (61) и голые, единичные щетинки по жилкам НЦЧ (19), что соответствует гипотезе расщепления 3 : 1. Значение χ^2 для признака наличия трихом на НЦЧ равно 0.066 при одной степени свободы. Расхождения между теоретическими и экспериментальными значениями допустимы, поскольку они меньше значения χ^2 для одной степени свободы и 5%-го уровня значимости (теоретическое равно 3.84). Следовательно, данные эксперимента согласуются с гипотезой моногибридного скрещивания и различия между ожидаемыми и наблюдаемыми значениями объясняются случайными причинами. При выяснении наиболее точного уровня значимости или возможной вероятности мы использовали способ математического выражения, где значения пределов вероятностей указывают на соответствие полученных и ожидаемых частот (Лобашов, 1967). Величина критерия χ^2 , равная 0.066, означает, что полученные отклонения случайны (соответствие полученных и ожидаемых частот примерно в одном случае из

двух), и указывает на совпадение фактических данных с теоретически ожидаемыми.

В результате проведенной гибридизации в комбинации (2) *E. brachypodioides* VLA-0719 × *E. pendulinus* VOK-0738 из окрестностей г. Владивостока было получено расщепление ряда качественных признаков у гибридных растений в F₂. Согласно ключам определителя сводки Н.С. Пробатовой (1985), образец VOK-0738 морфологически был похож на *E. kurilensis* Probat., формально отличаясь от него лишь местонахождением. Позднее *E. kurilensis* был обозначен как синоним *E. pendulinus* (Цвелёв, Пробатова, 2010). При анализе растений второго поколения межвидового гибрида VLA-0719 × VOK-0738 нами рассматривались следующие признаки: опушение влагалищ нижних листьев и наличие ресничек по краю влагалища листа; опушение УС; опушение верхней стороны ЛП перед колосом (флаговый лист). Анализируемая выборка первоначально состояла из 95 растений, затем часть растений погибла. Признаки опушения влагалищ и наличия ресничек по краю влагалища листа наиболее хорошо идентифицировались в прегенеративный период на живых растениях, тогда как расщепление остальных признаков было зафиксировано на генеративных побегах у 72 и 69 растений. Этим объясняется разница в числе анализируемых особей F₂.

Множественные варианты распределения признаков опушения поверхности влагалища листа и наличия ресничек по краю влагалища позволили сделать вывод об их

Таблица 5. Расщепление признаков у межвидовых гибридов F₂ по фенотипу и значения статистического критерия χ^2

Признак	Общее число особей	Фенотипический класс	Число особей		Значение χ^2
			ожидаемое	наблюдаемое	
Моногенное наследование признака					
1. <i>E. brachypodioides</i> MES-0721 × <i>E. pendulinus</i> USS-0720					
Опушение НЦЧ	80	Г-ЩЖ	20	19	0.066
		ШЩБ	60	61	
2. <i>E. brachypodioides</i> VLA-0719 × <i>E. pendulinus</i> VOK-0738					
Опушение НПВНЛ	95	Гол	71.25	67	1.014
		Вол	23.75	28	
Опушение УС	72	Гол	18	17	0.074
		Вол	54	55	
Опушение ВП-ЛП	69	Гол	17.25	19	0.236
		Вол	51.75	50	
Наличие ресничек НЦЧ	69	Безресн	17.25	15	0.391
		Реснит	51.75	54	
3. <i>E. brachypodioides</i> ZAR-0746 × <i>E. pendulinus</i> SAD-0842					
Опушение НЦЧ	40	Глад	10	5	3.333
		Вол	30	35	
Наличие ресничек НЦЧ	40	Безресн	10	5	3.333
		Реснит	30	35	
Опушение УС	40	Гол	10	10	0
		Вол	30	30	
4. <i>E. brachypodioides</i> ВКА-0921 × <i>E. pendulinus</i> SAD-0842					
Опушение НЦЧ	13	Гол	3.25	4	0.23
		Вол	9.75	9	
Наличие ресничек НЦЧ	13	Безресн	3.25	3	0.025
		Реснит	9.75	10	
Опушение УС	13	Гол	3.25	3	0.025
		Вол	9.75	10	
5. <i>E. pendulinus</i> AUS-1015 × <i>E. brachypodioides</i> VBG-0722					
Опушение НЦЧ	21	Кор шип	5.25	8	1.92
		Дл вол	15.75	13	
Опушение УС	21	Гол	5.25	3	1.285
		Вол	15.75	18	
Опушение ЛП	21	Ред вол	5.25	2	2.682
		Гол	15.75	19	
Дигенное наследование признака (15:1)					
2. <i>E. brachypodioides</i> VLA-0719 × <i>E. pendulinus</i> VOK-0738					
Опушение НЦЧ	69	Гол	4.3125	6	0.704
		Вол	64.6875	63	
6. <i>E. vernicosus</i> CHE-1044 × <i>E. pendulinus</i> AUS-1015					
Опушение НЦЧ	63	Ред шип	3.9375	4	0.975
		Вол	59.0625	59	

Примечание. Альтернативные признаки: НПВНЛ – опушение наружной поверхности влагалищ нижних листьев; ВП-ЛП – опушение верхней поверхности ЛП перед колосом. Характеристика фенотипических классов: Г-ЩЖ – голые, единичные щетинки по жилкам; ШЩБ – шиповатые и щетинистые по бокам; Дл – длинно; Кор – коротко; Ред – редко; Гол – голые, могут быть шероховатыми от мелких трихом; Глад – гладкие, не имеющие трихом; Вол – волосистые; Шип – шиповатые; Безресн – безреснитчатые, Реснит – реснитчатые.

независимом наследовании и подтвердили необходимость рассматривать эти признаки отдельно друг от друга. Если рассмотреть расщепление гибридов F_2 по признакам опушения поверхности влагалища листа без учета ресничек (см. табл. 5), то проявлялось моногенное наследование, что было подтверждено статистически.

Признак «опушение узлов стебля» проанализирован на генеративных побегах 72 особей. Отмечены растения с разным проявлением признака: голые гладкие УС, коротковолосистые слабоопушенные, длинно-густоопушенные УС, которые составили два фенотипических класса – голые УС и опушенные (см. табл. 5), поскольку идентификация промежуточных форм оказалась весьма затруднительной из-за различной степени выраженности признака. Распределение признаков в фенотипические классы согласуется с нулевой гипотезой о моногенном наследовании признака, о достоверности которой свидетельствует критерий χ^2 .

Признак опушения верхней поверхности ЛП перед колосом характеризовался различной степенью фенотипического проявления: от голых, шероховатых до длинно-густоволосистых ЛП. Особенность ЛП *E. pendulinus* s. l. в том, что она не бывает абсолютно голой и гладкой. На обеих сторонах листа в большей или меньшей степени проявляются мельчайшие шипики, расположенные в основном по жилкам, возможность визуализации которых открывается только при более чем 50-кратном увеличении. Таким образом, при отсутствии опушения на верхней части ЛП мы использовали термин «голые, шероховатые». Нижняя часть ЛП при характеристике признака опушения ЛП не учитывалась, поскольку для всех образцов растений характерна голая, шероховатая поверхность нижней стороны ЛП. По классам выборка распределилась на волосистые и голые фенотипы в численном соотношении 50:19, что соответствует расщеплению 3:1 (см. табл. 5). Варибельность ресничек НЦЧ невысокая по длине и плотности их расположения, поэтому фенотипические классы определялись по наличию или отсутствию ресничек по краям НЦЧ: реснитчатые и безреснитчатые НЦЧ. Значение критерия χ^2 свидетельствует о достоверности гипотезы моногенного контроля признака.

При анализе расщепления гибридов F_2 по признаку «опушение НЦЧ» мы столкнулись с множеством различающихся фенотипов. Все проявления признака можно распределить по типу трихом на четыре фенотипических класса (голые гладкие НЦЧ, шиповатые, щетинистые, длинноволосистые НЦЧ) и предположить дигенный контроль признака. При этом модель расщепления по фенотипу больше соответствует полимерному взаимодействию генов и проявляется в теоретическом соотношении 15:1, как волосистые и голые. Гипотеза дигенного наследования признака в данной комбинации скрещивания подтвердилась.

Таким образом, в трех вариантах скрещиваний растений из Приморского края выявлено расщепление по признаку «выраженность трихом на НЦЧ» в соответствии с моногенным наследованием, а в одном (2) *E. brachypodioides* VLA-0719 × *E. pendulinus* VOK-0738 – по дигенному типу.

Успешно была проведена межвидовая гибридизация образцов алтайского и приморского происхождения (5):

E. pendulinus AUS-1015 × *E. brachypodioides* VBG-0722. Расщепление потомков в F_2 фиксировали по трем признакам (два из которых являются диагностическими): «опушение НЦЧ», «опушение УС» и «опушение ЛП перед колосом». В данной выборке у всех растений присутствовали реснички на НЦЧ. Фертильность растений F_1 была относительно низкой (не выше 10 %). Следовательно, при образовании поколения F_2 прошел более жесткий отбор гамет и зигот, и расщепление признаков нельзя оценивать как свободное. Так, соотношение 19:2 в F_2 между особями с голыми и волосистыми ЛП при столь малой выборке не означает доминирования признака «голые ЛП».

У межвидовых гибридов F_2 между растениями из популяций Горного Алтая (6) *E. vernicosus* СНЕ-1044 × *E. pendulinus* AUS-1015 обнаружено расщепление по признаку «опушение НЦЧ» на четыре фенотипических класса: редкошиповатые, щетинистые, коротковолосистые и длинноволосистые НЦЧ. Поскольку изменчивость этого признака довольно велика, то граница между опушением, щетинками и короткими волосками в известной степени условна. Здесь также можно предположить полимерное взаимодействие генов, принимая теоретическое соотношение 15:1 между волосистыми в разной степени и редкошиповатыми НЦЧ. Значение критерия χ^2 свидетельствует о достоверности гипотезы дигенного контроля признака (см. табл. 5). Данное расщепление можно объяснить тем, что при наследовании признака «опушение НЦЧ» в ряде случаев имеет место полимерное взаимодействие неаллельных множественных генов. При этом признак проявляется при наличии хотя бы одного из доминантных аллелей полимерных генов. Наследование происходит по дигенному типу и проявляется как соотношение фенотипов 15:1.

Таким образом, по результатам проведенной гибридизации выявлены закономерности, необходимые для понимания структуры и микроэволюционных взаимоотношений среди группы таксономических видов рода *Elymus*. Достаточно высокие значения семенной фертильности гибридов во всех комбинациях свидетельствуют об отсутствии генетической изоляции между биотипами, формально относящимися к разным видам. Примечательно, что у гибрида в комбинации (2) VLA-0719 × VOK-0738, образованного родительскими биотипами из наиболее отдаленных ветвей NJ-дендрограммы (см. рис. 2), величина СФ близка к нормальной. Анализ расщепления потомств гибридных растений на рекомбинантные фенотипы с разной экспрессией признаков свидетельствует о наличии в генофонде трех таксонов не только множественного аллелизма генов, но и определенного множества генных локусов, ответственных за диагностические признаки.

Заключение

Для самоопыляющихся видов рода *Elymus* при сравнении биологической информативности гибридологического и ИССР-критериев нам видится несравненно более важным репродуктивный критерий. Причина в том, что при полном отсутствии апоцитоза точнейший механизм мейотических делений визуализирует уровни гомологии между геномами родительских биотипов, как показано в многочисленных работах по цитогенетике гибридов рода (Dewey, 1984; Lu, von Bothmer, 1993; Lu et al., 1995; и др.).

Любые нарушения в процессе мейотических делений, вызванные ошибками в конъюгации гомологов, неизбежно проявляются в уменьшении пыльцевой и семенной фертильности гибридов. И наоборот, высокие значения СФ свидетельствуют о полной гомологии геномов, а значит, о близком родстве родительских биотипов.

По результатам исследования сделан вывод, что на территории России генотипы видов *E. pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* представляют собой единый рекомбинационный генпул. Характер наследования диагностических признаков подтверждает целесообразность перевода названных видов в ранг разновидностей *E. pendulinus* s. l. Ключ для их определения опубликован в специализированном ботаническом издании (Кобозева, Агафонов, 2015).

Благодарности

Авторы выражают благодарность канд. биол. наук Д.Е. Никоновой (Герус) и сотрудникам Горно-Алтайского ботанического сада (пос. Камлак, Республика Алтай) за помощь в проведении экспедиционных исследований. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 11-04-00861, 16-34-00505).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Агафонов А.В. Принцип рекомбинационных (РГП) и интрогрессивных (ИГП) генпулов в биосистематике рода Пырейник (*Elymus* L.) Северной Евразии. Сиб. экол. журн. 1997;4(1):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;40(11):1490-1501.

Агафонов А.В. Дифференциация рода *Elymus* L. (Triticeae: Poaceae) в Азиатской части России с позиций таксономической генетики. Сиб. ботан. вестник: электрон. журн. 2007;2(1):5-15. <http://www.csbg.nsc.ru/uploads/journal.csbg.ru/pdfs/i2.pdf>.

Агафонов А.В., Баум Б.Р. Индивидуальная изменчивость и репродуктивные свойства половых гибридов внутри комплекса *Elymus trachycaulus* (Poaceae: Triticeae) и близких таксонов. 1. Полиморфизм запасных белков эндосперма у биотипов Северной Америки и Евразии. Turczaninowia. 2000;3(1):63-75.

Агафонов А.В., Герус Д.Е., Дорогина О.В. Самоопыление видов рода *Elymus* (Triticeae: Poaceae) и его отражение на полипептидных спектрах белков эндосперма. Сиб. ботан. вестник: электрон. журн. 2008;3(1-2):21-26. <http://www.csbg.nsc.ru/uploads/journal.csbg.ru/pdfs/i4.pdf>.

Завадский К.М. Вид и видообразование. Л.: Наука, 1968.

Кобозева Е.В., Агафонов А.В. Ревизия подсекции *Pendulini* (Nevski) Tzvelev рода *Elymus* L. (Poaceae). Сист. заметки по мате-

риалам Гербария им. П.Н. Крылова Том. гос. ун-та. 2015;112:22-31.

Кобозева Е.В., Овчинникова С.В., Агафонов А.В. Изменчивость и таксономические взаимоотношения между StY-геномными видами *Elymus pendulinus*, *E. brachypodioides* и *E. vernicosus* (Triticeae: Poaceae). Растит. мир Азиат. России. 2012;2(10):87-93.

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. Растит. мир Азиат. России. 2015;2(18):45-55.

Лобашев М.Е. Генетика. Л.: Ленингр. ун-т, 1967.

Миркин Б.М., Розенберг Г.С. Фитоценология. Принципы и методы. М.: Наука, 1978.

Пробатова Н.С. Мятликовые, или Злаки – Poaceae Varnh. (Gramineae Juss.). Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Л., 1985;1:89-382.

Работнов Т.А. Мозаичность луговых фитоценозов. Бюл. МОИП. Отд. биол. 1972;77(4):104-117.

Тахтаджян А.Л. Биосистематика: прошлое, настоящее и будущее. Ботан. журн. 1970;55(3):331-345.

Цвелёв Н.Н. О роде *Elymus* L. (Poaceae) в России. Ботан. журн. 2008;93(10):1587-1596.

Цвелёв 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: Дальнаука, 2010;57:5-102.

Agafonov A.V., Salomon B. Gene pools among SH genome *Elymus* species in boreal Eurasia. Triticeae IV. Eds. P. Hernández et al. Consejería de Agricultura y Pesca. Spain, Sevilla, 2002;37-41.

Dewey D.R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae. Gene Manipulation in Plant Improvement. Ed. J.P. Gustafson. N.Y.: Plenum Publ. Corp., 1984;209-279.

Kostina E.V., Agafonov A.V., Salomon B. Electrophoretic properties and variability of endosperm proteins of *Elymus caninus* (L.) L. Triticeae III. Ed. A.A. Jaradat. Enfield, New Hampshire: Sci. Publ., 1998;265-272.

Lu B.-R., von Bothmer R. Intergeneric hybridization between *Hordeum* and Asiatic *Elymus*. Hereditas. 1990;112:109-116.

Lu B.-R., von Bothmer R. Meiotic analysis of *Elymus caucasicus*, *E. longearistatus*, and their interspecific hybrids with twenty-three *Elymus* species: Triticeae (Poaceae). Plant Syst. Evol. 1993;185(1):35-53.

Lu B.-R., Salomon B., von Bothmer R. Interspecific hybridization with *Elymus confusus* and *E. dolichaterus*, and their genomic relationships (Poaceae: Triticeae). Plant Syst. Evol. 1995;197(1):1-17.

Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987.

Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979;76(10):5269-5273.

van de Peer Y., de Wachter R. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. Comput. Appl. Biosci. 1994;10:569-570.