

О ТАКСОНОМИЧЕСКОМ СТАТУСЕ *LEYMUS ORDENSIS* (POACEAE) ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И SDS-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ЭНДОСПЕРМА И ГИСТОНА H1

А.С. ЛИПИН¹, Н.К. БАДМАЕВА², К.С. БАЙКОВ¹, А.В. АГАФОНОВ¹

ON TAXONOMIC STATUS OF *LEYMUS ORDENSIS* (POACEAE) BY EVIDENCE OF MORPHOLOGICAL ANALYSIS AND SDS-ELECTROPHORESIS OF ENDOSPERM STORAGE PROTEINS AND HISTON H1

A.S. LIPIN¹, N.K. BADMAYEVA², K.S. BAIKOV¹, A.V. AGAFONOV¹

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, 630090 Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, 630090 Novosibirsk, Zolotodolinskaya st., 101
Fax: +7(338) 330-19-86, e-mail: root@botgard.nsk.su

²Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, 670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6
Institute of General and Experimental Biology, SB RAS, 670047 Ulan-Ude, Sakhyanovoi st., 6
Fax: +7(3012) 43-30-34, e-mail: badmayevan@mail.ru

Проведено комплексное изучение критического таксона из рода *Leymus* Hochst. — *Leymus ordensis* Peschkova. Выявлены неточности в описании морфологических признаков типовых экземпляров. Исследованы природные и интродукционные популяции *L. ordensis* из классического местонахождения (ORDL-0430, Иркутская обл., окр. пос. Усть-Орда) и *L. chinensis* (Trin.) Tzvel. из Иркутской области и Бурятии, а также гербарные образцы *L. akmolinensis* (Drob.) Tzvel. из разных частей ареала. Сравнительно-морфологический анализ показал: а) сходство изотипов *L. ordensis* и гербарных образцов *L. akmolinensis*; б) высокую изменчивость признаков природных популяций ORDL-0430 и *L. chinensis* OLHL-0409 (Иркутская обл., о. Ольхон); в) морфологическое несходство популяции ORDL-0430 типовым экземплярам *L. ordensis*. SDS-электрофорез эндосперма выявил увеличенный уровень гетерогенности полипептидных спектров популяции ORDL-0430 по сравнению с выборками из разных популяций *L. chinensis*. Анализ субфракционного состава гистона H1 показал значительное сходство популяций ORDL-0430 и OLHL-0409 *L. chinensis*. Сделан вывод, что видовая самостоятельность *L. ordensis* требует дополнительного обоснования.

Ключевые слова: *Leymus ordensis*, *L. chinensis*, *L. akmolinensis*, *L. paboanus*, таксон, морфотип, систематика, SDS-электрофорез, белки эндосперма, гистон H1.

A comprehensive study of the critical taxon *Leymus ordensis* Peschkova was carried out. Inaccuracy in the description of morphological characters of the typical specimens was revealed. Natural and experimental populations of *L. ordensis* from the classical location (ORDL-0430, Irkutsk Oblast, settlement Ust-Orda) and *L. chinensis* from Irkutsk Oblast and Buryatiya as well as herbarium specimens of *L. akmolinensis* from different parts of the area were studied. A comparative morphological analysis of diagnostic characters showed the following: i) visible similarity of isotypes of *L. ordensis* and herbarium specimens of *L. akmolinensis*; ii) significant variation of characteristics in experimental plants which had been grown from seeds of natural populations ORDL-0430 and *L. chinensis* OLHL-0409 (Lake Baikal, Olkhon Island); iii) absence of individuals identical to typical *L. ordensis* specimens in natural and experimental populations ORDL-0430. A higher level of heterogeneity of polypeptide pattern of individual seeds in comparison with that of different populations of *L. chinensis* was revealed in the population ORDL-0430 by SDS-electrophoresis. The electrophoretic analysis of subfractional composition of histon H1 showed significant similarity of experimental population ORDL-0430 to population OLHL-0409 of *L. chinensis* from the Olkhon Island (Lake Baikal). It was concluded that independence of *L. ordensis*, as a species described by just a few herbarium specimens, demands an additional substantiation.

Key words: *Leymus ordensis*, *L. chinensis*, *L. akmolinensis*, *L. paboanus*, taxon, morphotype, systematics, SDS-electrophoresis, endosperm proteins, histon H1.

ВВЕДЕНИЕ

Leymus ordensis описан из окрестностей пос. Усть-Орда Иркутской обл. (Пешкова, 1985). Во «Флоре Сибири» (Пешкова, 1990) распространение этого вида дано для Новосибирской области, Республики Алтай, юга Красноярского края, Иркутской области, Республики Тыва и Северной Монголии (Пешкова, 1990). Тип и изотип этого вида ранее были идентифицированы Г.А. Пешковой как *L. paboanus* (Claus) Pilger и как *L. akmolinensis* (Drobov) Tzvelev.

Первоначальное определение типовых гербарных образцов было произведено по признакам общего габитуса растений. Последующее отнесение их к *L. ordensis* выполнено по признаку укороченности колосковых чешуй. Нами проведено комплексное исследование гербарного и живого материала из классического местообитания *L. ordensis*, проведенное с использованием методов морфологического и электрофоретического анализов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Изучены выборки растений, выращенные на экспериментальном участке ЦСБС СО РАН из семян разных природных популяций (табл. 1).

Одна из них (ORDL-0430) расположена в классическом месте произрастания *L. ordensis* и, по логике, должна содержать морфотипы, соответствующие диагнозу вида. Для морфологического сравнения выбрана популяция OLHL-0409 *L. chinensis*, как одна из наиболее близко расположенная к первой из имеющихся в коллекции. В электрофоретическом изучении белков эндосперма использовались семена следующих географически близких природных популяций *L. chinensis*: OLHL-0410; OLHL-0412; KUOL-0404 (см. табл. 1). Для установления таксономически значимых морфологических признаков (табл. 2) были изучены типовые образцы, хранящиеся в Ботаническом Институте РАН (LE) и ЦСБС СО РАН (NS, NSK). Дополнительно привлечены собственные сборы растений различных популяций из Республики Алтай в 2006 г. (см. табл. 1, 4).

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

Нумерический анализ. Построение матрицы по субфракционному составу гистона H1 проведено по наличию (1) или отсутствию (0) компонента для каждого из изученных образцов. Выполнен кластерный анализ сходства образцов по методам Уорда (Ward's method) и «полной связи» (complete linkage) с использованием коэффициента «Манхэттенское расстояние» (Manhattan distance). Расчеты выполнены с использованием компьютерной программы Statistica 5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ морфологической изменчивости

В ключе для определения видов рода *Leymus* во «Флоре Сибири» (Пешкова, 1990) *L. ordensis* по признаку опушения оси колоска попадает одновременно в две секции — *Aphanoneuron* (Nevski) Tzvel. и *Anisopyrum* (Griseb.) Tzvel. (с. 42–43). В протологе *L. ordensis* (Пешкова, 1985) отмечено, что растения этого вида плотнодерновинные. Наши наблюдения за растениями данного вида в природной обстановке и на экспериментальном участке показали, что они имеют длинные горизонтальные корневища, залегающие на глубине не менее 20 см. Изучение типовых гербарных образцов *L. ordensis* (LE) пока-

зало, что особи обладают корневищно-кустовой жизненной формой роста, т. е. имеют и остатки корневищ, и плотный пучок из интравагинальных побегов диаметром около 2 см (т. е. часть дерновины). Соответственно, такие растения не могут быть отнесены к плотнодерновинным злакам.

Комплекс диагностических признаков, приведенный в морфологическом описании *L. ordensis*, не позволяет отличить его от *L. akmolinensis*, *L. chinensis* и *L. paboanus* (Пешкова, 1990). Следует отметить перекрывание большей части морфологических признаков *L. ordensis*, *L. akmolinensis* и *L. paboanus* (Пешкова, 1990), в частности формы и длины колос-

Географические точки сбора (происхождения) образцов, их номенклатура и видовая принадлежность

Номенклатурный код образца	Предварительное определение (по Пешковой, 1990)	Место произрастания
ORDL-0430	<i>L. ordensis</i>	Иркутская обл., окр. с. Усть-Орда, пойма р. Кудя; (клас. мест.), Н.К. Бадмаева
OLHL-0409	<i>L. chinensis</i>	Иркутская обл., о. Ольхон, у переправы. 13.08.04. Н.К. Бадмаева
OLHL-0410	<i>L. chinensis</i>	Иркутская обл., о. Ольхон, окр. с. Маломорец, злаково-разнотравная степь. Н.К. Бадмаева
OLHL-0412	<i>L. chinensis</i>	Иркутская обл., о. Ольхон, окр. с. Хужир. 12.08.04. Н.К. Бадмаева
KUOL-0404	<i>L. chinensis</i>	Бурятия, Кижингинский р-н, окр. соленого оз. Куорка, Н.К. Бадмаева
AKAL-0611	<i>L. akmolinsis</i> ?* <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, Кош-Агачский р-н, с. Кош-Агач, заправочная станция. Солончак. 2006.08.18. А.С. Липин, Н.К. Бадмаева
AUKL-0601	<i>L. paboanus</i> ? <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, хр. Южно-Чуйский, плато Укок, h 2438 м, N 49°30'25,1'', E 88°05'00,7''. Разнотравно-злаковая каменистая степь. 2006.08.20. А.С. Липин, Н.К. Бадмаева
ATHL-0602	<i>L. paboanus</i> ? <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, хр. Южно-Чуйский, плато Укок, дол. р. Тархаты, у моста, N 49°34', E 87°57'. Каменистый степной склон. 2006.08.20 А.С. Липин, Н.К. Бадмаева
ATRL-0612	<i>L. paboanus</i> ? <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, хр. Южно-Чуйский, дол. р. Талдуры, h 2009 м, N 49°57'49,1'', E 87°58'57,3''. Разнотравно-злаковая каменистая степь. 2006.08.22. А.С. Липин, Н.К. Бадмаева
ATRL-0614	<i>L. akmolinsis</i> ? <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, хр. Южно-Чуйский, дол. р. Талдуры, h 2009 м, N 49°57'49,1'', E 87°58'57,3''. Разнотравно-злаковая каменистая степь. 2006.08.22. А.С. Липин, Н.К. Бадмаева
ATRL-0650	<i>L. paboanus</i> ? <i>L. ordensis</i> ?	Республика Алтай, хр. Южно-Чуйский, дол. р. Талдуры, h 2042 м, N 49°57'36,3'', E 87°58'06,3''. Каменистый склон. 2006.08.22. А.С. Липин, Н.К. Бадмаева

* Образец, имеющий неполные морфологические признаки вида, стоящего под знаком вопроса.

ковых и цветковых чешуй, их остей. Данные виды различаются лишь характером опушения нижних цветковых чешуй, причем для *L. ordensis* опушение указано от голых до волосистых, что нивелирует различия.

Соотношение колосковых чешуй между собой, а также по отношению к цветковым, отмеченные в описании, не позволяют достоверно определить видовую принадлежность таких растений. Признаки цветковых чешуй также не отличают *L. ordensis* от *L. akmolinsis*. Указанные в описании шипики на верхних цветковых чешуях изотипов нами не наблюдались, цветковые чешуи были опушены короткими волосками около 1 мм дл. Единственным отличительным признаком остается неравность колосковых чешуй (Пешкова, 1990). Однако по нашим исследованиям как большого массива гербарных образцов (LE, NS, NSK), так и природных популяций (Бурятия, Тыва, Алтай) данный признак может независимо появляться у различных видов и популяций рода под воздействием условий среды. Наши исследования показали, что такие колосковые чешуи нередко встречаются во многих популяциях *L. chinensis* и *L. paboanus*. Это может быть вызвано как генетически обусловлен-

ными различиями, так и влиянием условий обитания, т. е. проявлением модификационной или тератологической изменчивости. Следовательно, морфологические границы видов расплываются, и мы не можем с уверенностью утверждать, что перед нами *L. ordensis*.

Для уточнения таксономической значимости морфологических признаков мы обратились к типовым образцам *L. ordensis* и *L. akmolinsis* (табл. 2). Общий габитус типовых образцов *L. ordensis* достаточно сильно различался и вполне соответствовал первоначальным этикеткам, габитус же типовых образцов *L. akmolinsis* был практически одинаков. При изучении отдельных признаков типовые образцы *L. ordensis* показали большую вариабельность, причем морфологические различия между первым и вторым типовыми гербарными листами *L. ordensis* оказались даже больше, чем между третьим типовым образцом *L. ordensis* и *L. akmolinsis*. Наиболее отличался от всех второй типовой образец *L. ordensis*. Таким образом, различия типовых гербарных листов *L. ordensis* показали внутренние отличия и перекрывание по ряду признаков с такими у *L. akmolinsis*. Но оказалось невозможным выявить признаки, однозначно характерные толь-

Морфологические различия между типовыми образцами и изотипом *L. ordensis* Peschkova и *L. akmolimensis* (Drob.) Tzvel.

Первое определение	1. <i>L. akmolimensis</i> (Drob.) Tzvel.	2. <i>L. rabanus</i> (Glaucus) Pilg.	3. <i>L. akmolimensis</i> (Drob.) Tzvel.	4. <i>Elymus akmolimensis</i> Teste W. Drobov.	5. <i>L. akmolimensis</i> Teste W. Drobov.	6. <i>L. akmolimensis</i> Teste W. Drobov.
Новое определение, типы	<i>L. ordensis</i> Peschkova (Tyrus, LE), 1984, 1-й герб. обр.	<i>L. ordensis</i> Peschkova (Tyrus, LE), 1984, 2-й герб. обр.	<i>L. ordensis</i> Peschkova (Изотип, NS), 1984	<i>E. akmolimensis</i> Drob. (Specimen authenticum, LE), 1913, 2-й герб. обр.	<i>E. akmolimensis</i> Drob. (Specimen authenticum, LE), 1914, 3-й герб. обр.	<i>E. akmolimensis</i> Drob. (Specimen authenticum, LE), 1914, 3-й герб. обр.
Тип разрастания	Плотнокустовое, но с остатками корневищ до 3 см	Плотнокустовое, но с остатками корневищ (2; 3 см)	Дерновное, остатками корневища 1 см	Дерновное (часть растения: пучок 2 см в диаметре), есть остатки корневища — 3,7 см	Дерновное (часть растения: пучок 2,5 см в диаметре), есть остатки корневища — 5 см;	Дерновное (часть растения: пучок 2,5 см в диаметре), есть остатки корневища
Ось колоса	волосистая лишь по ребрам	волосистая лишь по ребрам	волосистая лишь по ребрам	волосистая	волосистая	волосистая лишь по ребрам
Ось колоска	редко волосистая	редко волосистая	редко волосистая	прижато волосистая	прижато волосистая	прижато волосистая
Длина кол. чешуй	2–4 мм	3–5 мм	1–8 мм	8–9 мм	8–9 мм	8–9 мм
Соотношение кол. чешуй	резко неравные	резко неравные	резко неравные	неравной длины	неравной длины	неравной длины
Форма кол. чешуй	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками	очень узкие, линейно-шпловидные, с 1 слабо заметной жилкой, по краям с шипиками
Опушение кол. чешуй	по краям и спинке в верхней части с шипиками	по краям и спинке в верхней части с шипиками	по краям и спинке в верхней части с шипиками	по краям и спинке в верхней части с шипиками	по краям и спинке в верхней части с шипиками, реже голые	по краям и спинке в верхней части с шипиками, реже голые
Длина кол. чешуй относительно нижнего цветка	почти вдвое короче нижнего цветка, иногда одна из них сильно редуцирована	почти вдвое короче нижнего цветка, иногда одна из них сильно редуцирована	почти вдвое короче нижнего цветка, иногда одна из них сильно редуцирована	равны или немного короче прилегающего нижнего цветка	равны или немного короче прилегающего нижнего цветка	равны или немного короче прилегающего нижнего цветка
Форма нижних цветковых чешуй (н.ч.ч.)	Широколанцетные со слабо выраженными жилками	Широколанцетные со слабо выраженными жилками	Широколанцетные со слабо выраженными жилками	Широколанцетные заметными жилками	Широколанцетные заметными жилками	Широколанцетные со слабо выраженными жилками
Опушение н.ч.ч.	редкое рассеянно волосистое, с короткими волосками по бокам и в верхней части, спинка голая. Восковой налет	бурое с редким опушением, прижатыми волосками по всей поверхности. Восковой налет	редкое опушение короткими и тонкими волосками. Восковой налет	редкое опушение короткими и тонкими волосками. Восковой налет	редкое опушение короткими и тонкими волосками. Восковой налет	голые, блестящие
Длина остей н.ч.ч.	до 1 мм	1–2 мм, реже заостренные	до 1 мм	до 2 мм	до 2 мм	до 2 мм

Примечание: Группы одинаковых признаков выделены жирным шрифтом, или (и – при совмещении признаков групп) курсивом.

1, 2, 3 – Иркутская обл., Эхирит-Булагатский р-н, дол. р. Кудя близ пос. Усть-Орда, солончаки. 1957. Г.А. Пешкова;

4, 5 – Акмолинская обл. солончаки у аула Брай, в 10 верстах севернее с. Алексеевской. 1913.06.19. №561. В.П. Дробов;

6 – Акмолинская обл. Атсарбайский у., на южном склоне сопки по берегу болота Ак-Су. 1914.06.26. №1130. С.С. Ганешин.

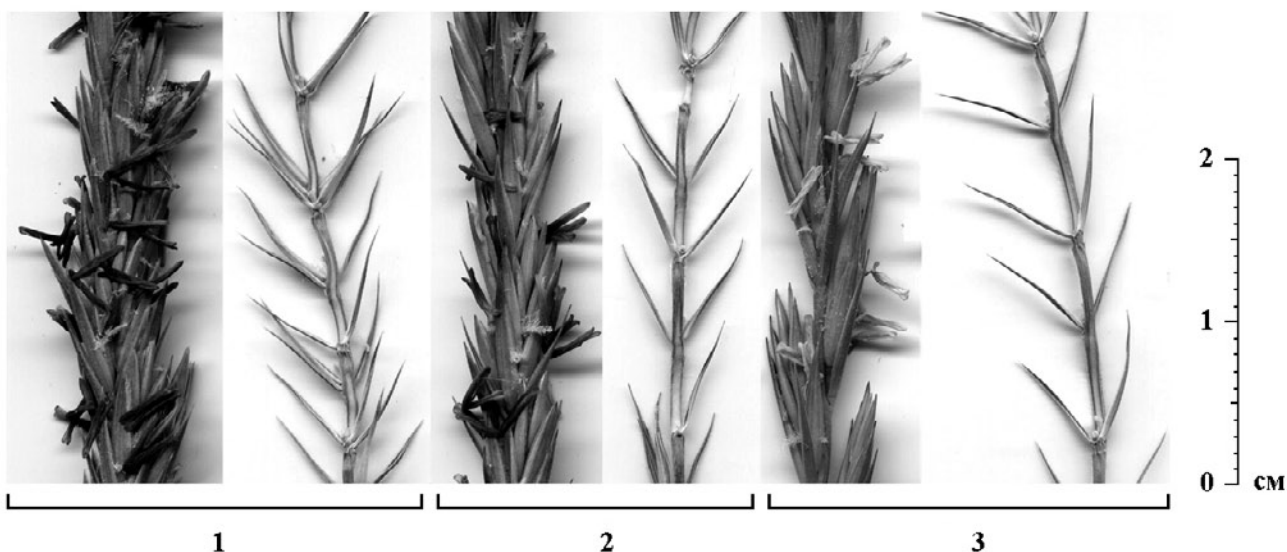


Рис. 1. Фрагменты разных по строению колосьев и их осей с колосковыми чешуями *L. ordensis* популяции ORDL-0430. Представлены контрастные варианты строения.

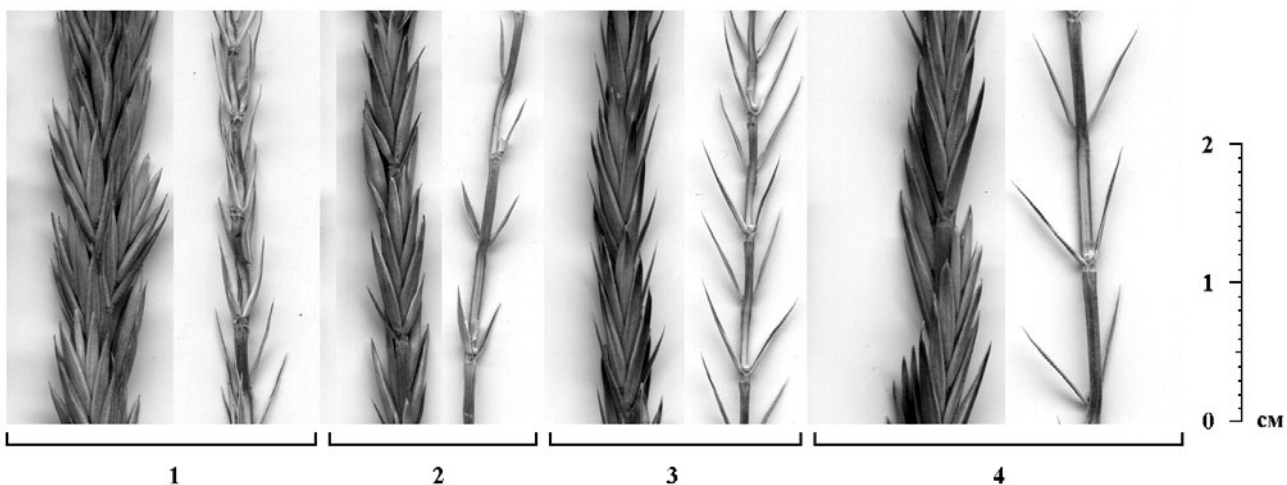


Рис. 2. Фрагменты разных по строению колосьев и их осей с колосковыми чешуями *L. chinensis* популяции OLHL-0409. Представлены контрастные варианты строения.

ко для *L. ordensis*. Сравнительно-морфологический анализ признаков вегетативных и генеративных органов растений из природных популяций *L. ordensis* ORDL-0430 (рис. 1) и *L. chinensis* OLHL-0409 (рис. 2) показал значительную изменчивость в обеих выборках, в том числе по соотношению длины колосковых чешуй. Общие результаты морфологического анализа приведены в табл. 3.

Сравнительно-морфологический анализ диагностических признаков подтвердил значительное сходство изотипов *L. ordensis* и гербарных образцов

L. akmolinensis. Выборка из окр. Усть-Орды популяции ORDL-0430 в классическом местонахождении *L. ordensis* сходна, а по некоторым признакам идентична выборке из популяции *L. chinensis* OLHL-0409 с острова Ольхон, и отличается от изотипов *L. ordensis*. По материалам, собранным в природной популяции ORDL-0430 в 2004 г., нами выявлено около 20 % полностью стерильных колосьев, что свидетельствует о возможности гибридного происхождения *L. ordensis* данной популяции.

Морфологические характеристики растений изотипов *L. ordensis* и гербарных образцов *L. akmolinenis* из гербария ЦСБС СО РАН, а также популяций ORDL-0430 и OLHL-0409, включенных в сравнительный электрофоретический анализ

№	Длина колоса, см	Число кол. на уступе	Отношение длин кол. и цвет. чешуй $k_1=L_{\text{КЧ}}/L_{\text{ЦВ}}$	Неровность кол. чеш. $k_2=L_{\text{min}}/L_{\text{max}}$	Опуш. нижн. цв. чеш.	Опуш. верхн. цв. чеш.	Сиз. налет	Опуш. ЛП	Опуш. лист. влаг.
Изотипы <i>L. ordensis</i>									
1	5-6.5	1	0.6-0.8	0.4-0.8	вол.	вол.	инт.	-	-
2	6-8.5	1	0.6-1.0	0.7-0.8	вол.	вол.	инт.	-	-
Образец <i>L. ordensis</i> из Новосибирской области									
1	14	2	0.6-1.0	0.75-1.0	вол.	вол.	инт.	-	-
Выборка из популяции ORDL-0430									
1	14.5	2	0.3-1.0	0.4-0.7	гол.	гол.	инт.	-	-
2	12.5	2	0.6-1.0	0.5-0.8	гол.	гол.	инт.	+	-
3	10	2	0.3-0.9	0.7-0.9	-	-	инт.	+	-
4	12.5	2	0.7-1.0	0.6-1.0	гол.	гол.	инт.	+	+
5	13	2	0.4-1.0	0.5-0.9	-	-	инт.	+	+
6	16	2	0.6-1.0	0.7-0.9	гол.	гол.	инт.	+	+
7	15	2	0.3-1.0	0.7-0.8	гол.	шип.	отс.	+	-
8	18	2	0.9-1.0	0.8-1.0	шип.	шип.	слаб.	+	+
9	18	1	0.4-1.0	0.4-0.9	гол.	гол.	слаб.	+	-
10	13	2	0.7-1.0	0.7-0.9	гол.	гол.	слаб.	+	-
11	17.5	2	0.2-1.0	0.4-0.8	шип.	шип.	инт.	+	-
12	9.5	2	0.4-0.9	0.7-0.9	-	-	инт.	+	-
Образцы популяции OLHL-0409									
1	14	2	0.6-0.8	0.7-1.0	вол.	шип.	отс.	+	-
2	15	2	0.7-0.9	0.4-1.0	шип.	шип.	инт.	+	-
3	9.5	2	0.7-0.8	0.8-1.0	гол.	гол.	инт.	+	-
4	12	2	0.6-0.7	0.7-0.8	шип.	шип.	инт.	+	-
5	11.5	2	0.8-1.0	0.8-1.0	гол.	гол.	слаб.	+	-
6	14	2	0.6-0.8	0.8-0.9	гол.	гол.	инт.	+	-
7	10.5	2	0.7-0.8	0.7-1.0	гол.	гол.	инт.	-	-
8	19.5	2	0.8-1.0	0.8-1.0	шип.	шип.	слаб.	+	-
9	9.5	2	0.7-0.9	0.8-1.0	гол.	шип.	инт.	+	-
10	10.5	2	0.8-0.9	0.6-1.0	гол.	шип.	инт.	+	-
11	7.5	2	0.6-0.7	0.6-1.0	гол.	шип.	слаб.	+	-
12	11	1	0.7-1.0	0.9-1.0	гол.	шип.	инт.	-	-
Гербарные образцы <i>L. akmolinenis</i> *									
1	6.5	2	0.75-1.0	0.63-1.0	гол.	вол.	инт.	-	-
2	9.5	2	0.8-0.9	0.8-1.0	гол.	вол.	инт.	-	-
3	11	1	0.5-1.0	0.5-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-
4	9.5	2	0.8-1.0	0.7-0.8	шип.	шип.	инт.	-	-
5	12	2	0.88-1.0	0.8-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-
6	8	1	0.50-0.89	0.33-0.83	вол.	вол.	инт.	-	-
7	10	2	0.55-1.0	0.5-1.0	гол.	гол.	инт.	-	-
8	9.5	2	0.38-0.86	0.14-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-
9	9	1	0.50-0.86	0.30-0.66	шип.	шип.	инт.	-	-
10	7.5	2	0.50-0.86	0.13-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-
11	5.5	2	0.85-1.0	0.8-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-
12	13	2	0.75-1.0	0.88-1.0	шип.	шип.	инт.	-	-

Примечание: кол. — колосков, колосковых; Опуш. нижн. цв. чеш. — опушение нижних цветковых чешуй (вол. — волоски, шип. — шипики, гол. — голые); Опуш. верхн. цв. чеш. — опушение верхних цветковых чешуй (вол. — волоски, шип. — шипики, гол. — голые); Сиз. налет — выраженность сизого налета (инт. — интенсивный, слаб. — слабый, отс. — отсутствует); Опуш. ЛП — опушение листовой пластинки с нижней стороны: имеется (+), отсутствует (-); Опуш. лист. влаг. — опушение листового влагалища: имеется (+), отсутствует (-). Жирным шрифтом выделены образцы, у которых длинная колосковая чешуя вдвое короче прилегающей нижней цветковой чешуи (значение в колонке 4 0,6 и менее).

*1, 2. Новосибирская обл., Карасукский р-н, окр. биостанции. 1985.07.10 (цв.) (NSK); 3-5. Тува, Эрзинский р-н, пос. Эрзин. 1986.07.08 (цв.) Опр. Г. Пешкова (NSK); 6. Хакасия, Усть-Абаканский р-н, окр. ст. Капчалы, оз. Круглое. Востречовый луг. 1967.06.25 (цв.) (NS); 7. Хакасия, Ширинский р-н, окр. с. Власьево, оз.1-е Утичье. Бескильничево-пикульниковый луг. 1975.07.02 (цв.) (NS-2); 8. Хакасия, Ширинский р-н, окр. оз. Беле. Солонцеватая степь. 1971.07.20 (пл.) (NS); 9. Хакасская А. О., Усть-Абаканский р-н, окр. с. Весеннее, оз. Круглое. Бескильничево луг. 1975.07.07 (цв.) (NS); 10. Хакасия Усть-Абаканский р-н, окр. с. Чарково. Бескильничево луг. 1969.07.20 (пл.) (NS); 11. Алтай, Онгудайский аймак, окр. д. Кулада. Степь. 1948.07.31 (пл.) Опр. Г. Пешкова (NS); 12. Новосибирская обл., Чулымский р-н, окр. пос. Малиновский. Засоленный луг. 1947.09.14 (пл.) Опр. Г. Пешкова (NS).

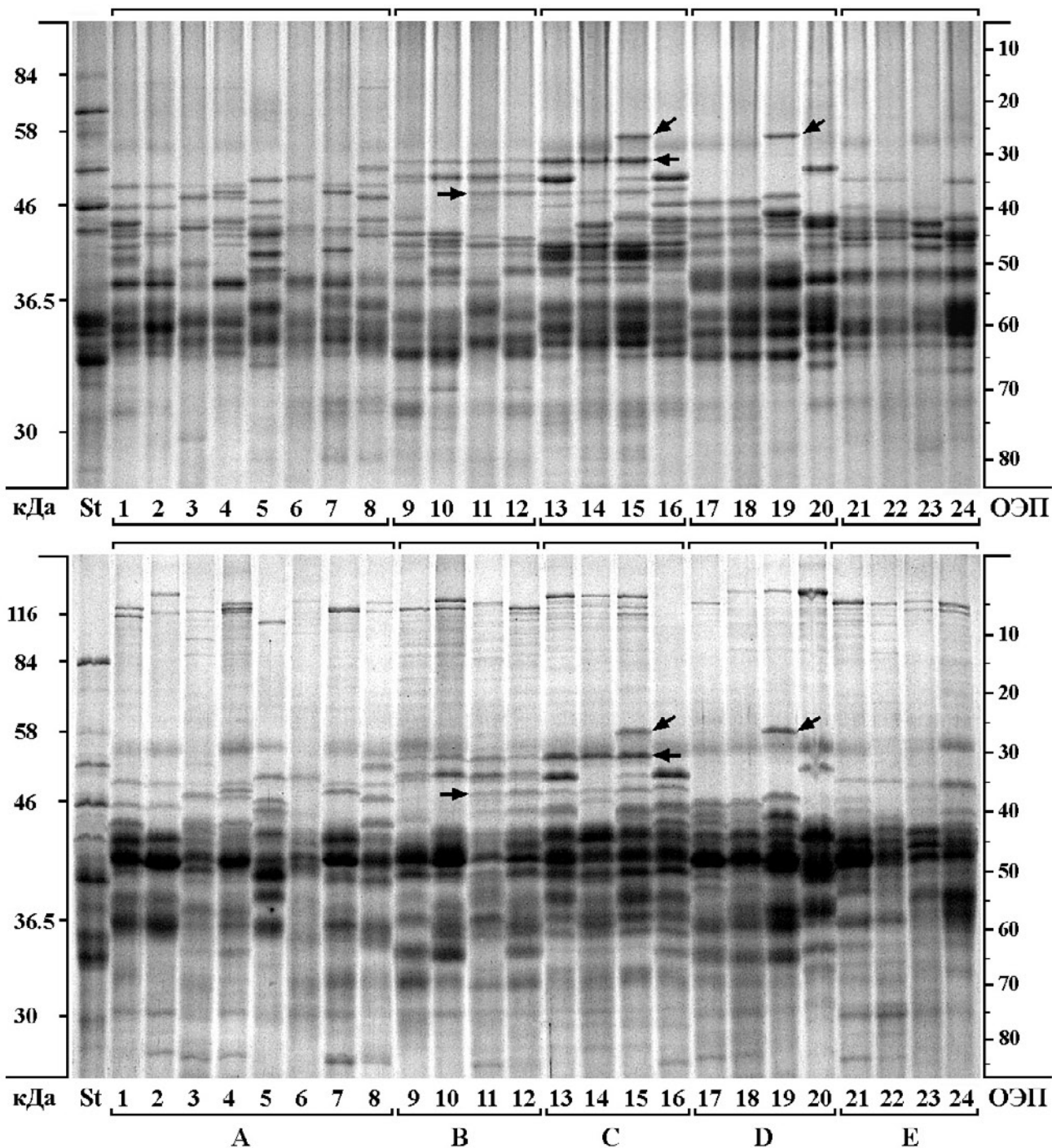


Рис. 3. SDS-электрофореграммы белков эндосперма гетерогенной популяции *L. ordensis* ORDL-0430 (A) в сравнении с географически близкими (B, C, D) и относительно удаленной популяцией (E) *L. chinensis*. Полипептидные спектры отдельных зерновок с разных растений в вариантах -Me (вверху) и +Me (внизу). B – OLHL-0409; C – OLHL-0410; D – OLHL-0412; E – KUOL-0404. St – эталонный спектр линии ALT-8401 *Elymus sibiricus*; кДа – ориентировочная шкала молекулярных масс; ОЭП – шкала относительной электрофоретической подвижности.

2. Анализ изменчивости по запасным белкам эндосперма

Ранее было показано, что SDS-электрофорез запасных белков эндосперма (проламин-глутелиновый комплекс) может быть использован для идентификации генотипов и как индикатор состояния популяций в роде *Elymus* (Агафонов, Агафонова, 1992; Агафонов, Костина, 2003; Агафонов, 2004). Главное преимущество запасных белков как генетических маркеров заключается в том, что для анализа нет необходимости в живом материале, так как белки эндосперма сохраняют электрофоретические свойства много лет даже после потери семенами всхожести. Масса сухих зерновок, очищенных от чешуй, у видов *Leymus* из секций *Anisopyrum* и *Aphanoneuron* колеблется в пределах 1.0–2.0 мг, т. е. значительно меньше, чем у видов *Elymus*. Тем не менее, нами были получены и проанализированы два типа белковых экстрактов из каждой отдельной зерновки.

На рис. 3 показана изменчивость полипептидных спектров зерновок с разных растений из гетерогенной популяции *L. ordensis* ORDL-0430 в сравнении с таковыми из четырех популяцией *L. chinensis* в электрофоретических вариантах –Me и +Me. Мономерные белки (вариант –Me), в основном представленные проламинами, характеризуются молекулярными массами 30–60 кДа. Высокий уровень полиморфизма проламиновых компонентов выявлен во всех популяциях *L. chinensis*. Инвариантные проламиновые полипептиды присутствуют в диапазоне ОЭП 25–37 ед. Эти компоненты сохраняли неизменным значение ОЭП после обработки экстрактов 2-меркаптоэтанолом аналогично таковым у видов рода *Elymus* (Агафонов, Агафонова, 1992; Kostina et al., 1998). Полипептиды с молекулярными массами 28–35 кДа изменяли величину ОЭП, что указывало на присутствие у них внутренних S-S связей (цистин). В варианте +Me на гелях обнаружены дополнительные компоненты, которые, вероятнее всего, могут быть отнесены к субъединицам глютелина. Высокомолекулярные субъединицы (ВМС) у изученных видов отмечены в диапазоне 3–878 ед. ОЭП и обладали молекулярной массой около 110–130 кДа. Выявлена значительная изменчивость полипептидных спектров не только внутри каждой популяции, но и среди сестринских зерновок, т. е. взятых с одного колоса. Это явление, обусловленное перекрестным типом опыления, существенно усложняет выполнение кластерного анализа, поэтому было проведено изучение качественных характеристик. Так, в варианте –Me у близко расположенных популяций *L. chinensis* (OLHL-0409; OLHL-0410; OLHL-0412) обнаружены общие инвариантные компоненты проламина 26, 32 и 37 ед. ОЭП (указаны стрелками).

Географически отдаленная популяция KUOL-0404 не имела ни одного компонента, совпадающего по ОЭП со спектрами популяций о. Ольхон. Тем не менее, наибольший полиморфизм по проламиновым белкам визуально отмечен в популяции ORDL-0430. При этом каждая популяция характеризовалась специфическим составом компонентов, что свидетельствует как о внутривидовом, так и внутрипопуляционном множественном аллелизме соответствующих генов. В варианте +Me выявлены различия между зерновками 17 и 18 популяции OLHL-0412, которые были практически идентичны в варианте –Me. Здесь также наиболее изменчивой являлась популяция ORDL-0430, среди 8 зерновок которой не обнаружено тождественных высокомолекулярных субъединиц глютелина.

Таким образом, высокий полиморфизм по полипептидному составу спектров запасных белков эндосперма в данном случае не позволяет сделать однозначный вывод о генетической обособленности популяции ORDL-0430.

3. Анализ изменчивости по гистону H1

Было проведено электрофоретическое изучение изменчивости субфракционного состава гистона H1 у образцов из популяций *L. ordensis* ORDL-0430 и *L. chinensis* OLHL-0409, включенных в сравнительно-морфологический анализ. Установлена высокая неоднородность в спектрах гистона, которые содержали большое число неповторяющихся субфракций (рис. 4).

Наибольший полиморфизм субфракционного состава гистона H1 выявлен в популяции ORDL-0430. На основе полученных спектров построена схема распределения субфракций гистона H1 и составлена матрица присутствия-отсутствия каждой субфракции. Построена дендрограмма сходства изученных образцов (рис. 5). Выявлено отсутствие строгой корреляции между видовой принадлежностью образцов и их субфракционным составом гистона H1. Однако при этом особи из одной популяции встречались чаще в двух крупных кластерах. Более всего выделяются растения 6 и 8 из популяции ORDL-0430. Если вернуться к табл. 3, то можно увидеть, что эти растения обладали достаточно контрастными морфологическими характеристиками. У растения 6 выражена неравномерность колосковых чешуй с цветковыми и между собой 0.6–1.0 и 0.7–0.9 соответственно, а также голые цветковые чешуи и заметный сизый налет; у растения 8 неравномерность колосковых чешуй с цветковыми и между собой практически не выражена, достигая показателей 0.9–1.0 и 0.8–1.0 соответственно, на цветковых чешуях имеются шипики, сизый налет

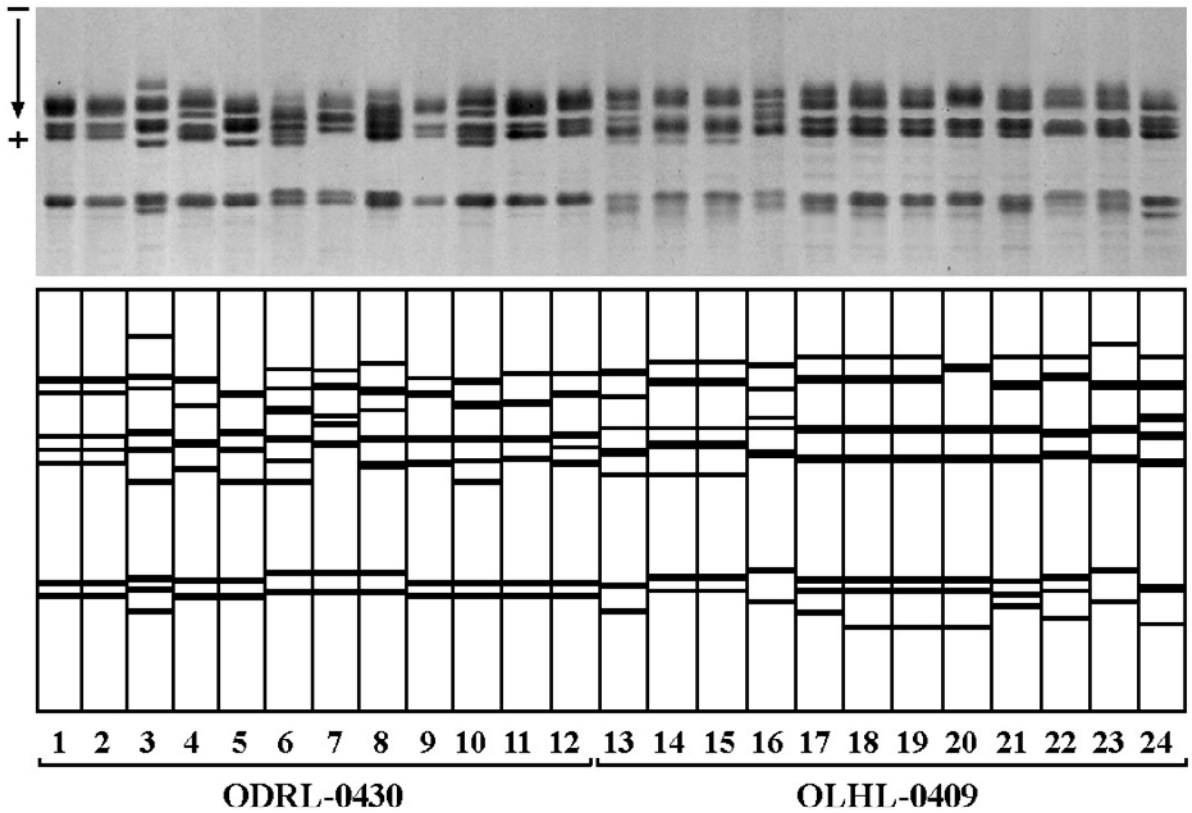


Рис. 4. Изменчивость гистона H1 у растений из популяций *L. ordensis* ORDL-0430 (1–12) и *L. chinensis* OLHL-0409 (13–24).

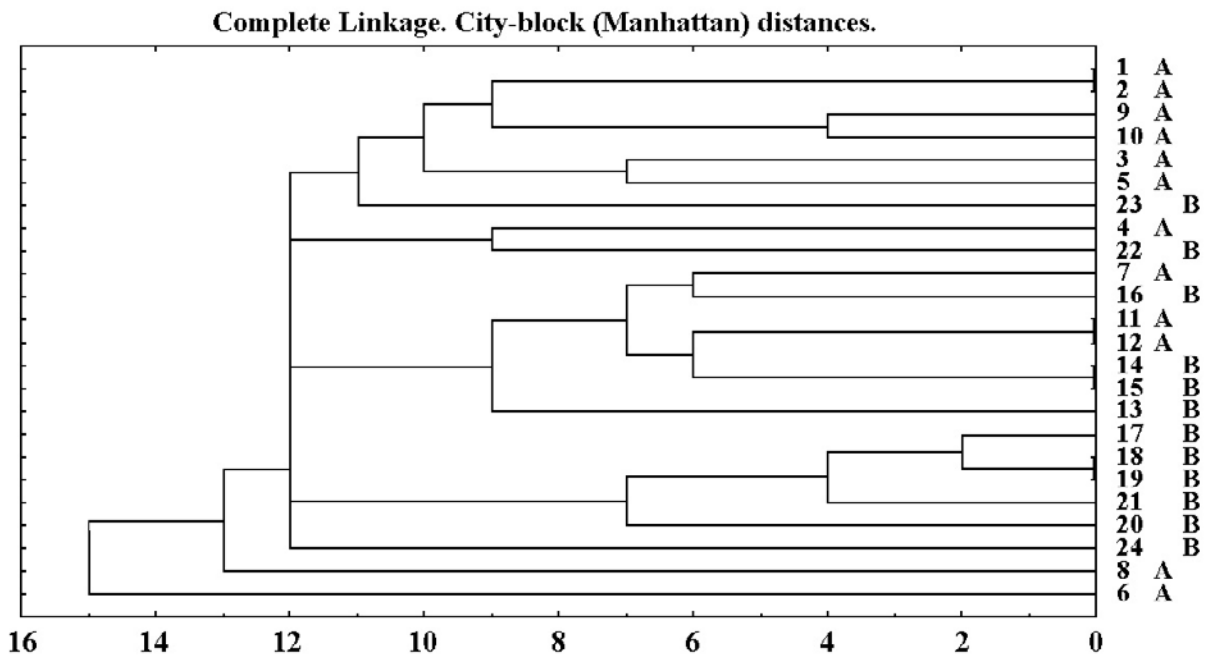


Рис. 5. Дендрограмма на основе данных по субфракционному составу гистона H1 у растений из популяций *L. ordensis* ORDL-0430 (A) и *L. chinensis* OLHL-0409 (B) по методу «полной связи» с использованием коэффициента «Манхэттенское расстояние». Шкала показывает уровень различий.

слабо выражен. Полученные результаты дают основание предполагать, что в формировании популяции ORDL-0430 изначально участвовали другие виды *Leymus*.

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

Главной репродуктивной особенностью большинства представителей рода *Leymus* является сочетание интенсивного вегетативного (длинные или короткие корневища) и семенного размножения на основе перекрестного опыления. В результате даже достаточно отдаленные (межсекционные) гибриды, не дающие жизнеспособных гамет и потерявшие способность к семенному размножению, могут образовывать мощные клоны и занимать обширные территории. Анализ природных популяций в разных районах Южной Сибири показал, что большинство из них являются морфологически гетерогенными и в той или иной степени различаются по характеру полиморфизма. Во многих по-

пуляциях с высокой долей вероятности протекают процессы межвидовой гибридизации с последующими явлениями неупорядоченного перераспределения генетического материала между особями, т. е. явления генетической рекомбинации и межвидовой интрогрессии. Это косвенно подтверждается наличием в популяциях значительного числа растений с закрытыми пыльниками, а также низкой или нулевой семенной фертильностью. Необходимо отметить, что во многих многолетних родах трибы *Triticeae* хорошо различимыми и легко диагностируемыми как виды, чаще всего могут быть только крайние формы, сочетающие те или иные признаки (Агафонов, 2004; Герус, Агафонов, 2006.). Так, нами не обнаружено четких морфологических признаков, которые могли бы бесспорно разграничить *L. chinensis* и *L. ramosus* (Trin.) Tzvel. (Бадмаева и др., 2006).

В качестве дополнительного основания для решения вопроса о видовой самостоятельности *L. ordensis* в Республике Алтай в 2006 г. были собра-

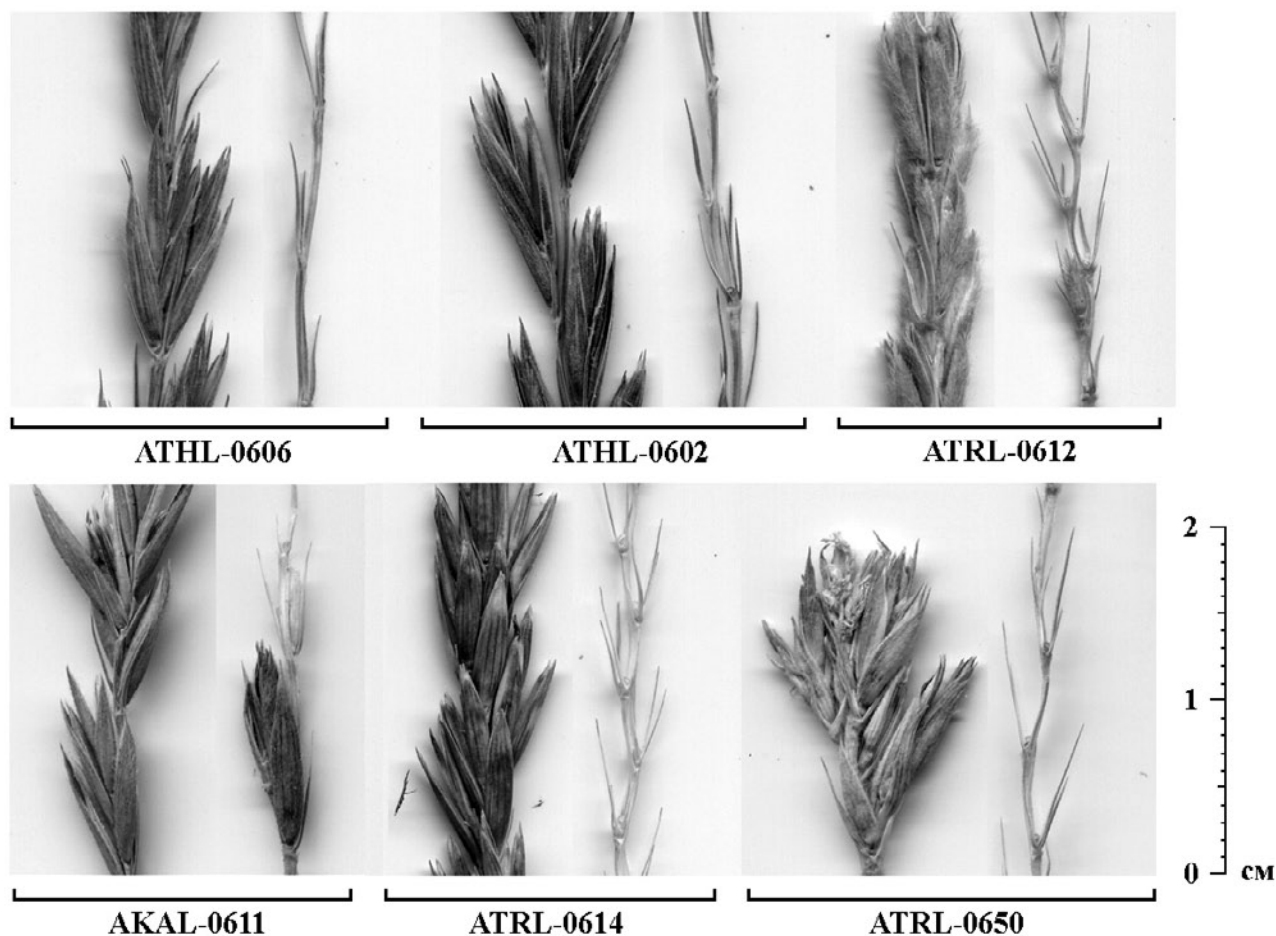


Рис. 6. Фрагменты разных по строению колосьев и их осей с колосковыми чешуями разных популяций Республики Алтай (2006). Представлены морфотипы с признаками двух видов.

ны гербарные образцы с признаками одновременно двух видов (рис. 6).

По ряду признаков они могут быть определены как *L. ordensis*, хотя габитуально некоторые больше соответствуют *L. paboanus* или *L. akmolinsensis*. На основе природных сборов была составлена таблица принадлежности признаков определенным видам (табл. 4). У этих образцов установлен большой размах изменчивости как по соотношению длин цветковой и колосковой чешуй, так и по длинам остей. Следовательно, появление укороченных неравных колосковых чешуй могло происходить параллельно и независимо в разных линиях развития рода *Leymus*. Так, популяция АКАЛ-0611, собранная на солончаке, имела переходные признаки между тремя таксонами — *L. ordensis*, *L. paboanus* и *L. akmolinsensis*. Вполне возможно, что именно условия местообитания сформировали габитус растения. То есть, в силу постоянной перекрестной комбинации при перекрестном опылении идет образование новых клонов, на которые в свою очередь оказывают влияние факторы местообитания (засоление, перепады температур, инсоляция, засуха). Так образуется огромное количество отклоняющихся форм с самыми различными признаками. Таким образом, становится неясным, какую именно совокупность особей следует относить к *L. ordensis*.

Сложность определения второго гипотетического предка *L. ordensis* из пары *L. paboanus* и

L. akmolinsensis обусловлена их близким родством, что многократно отмечалось ранее (Цвелев, 1972; Пешкова 1985, 1990). *L. paboanus* и *L. akmolinsensis* отличаются опушением и цветом цветковых чешуй, но эти признаки варьируют. Местообитания этих видов схожи (*L. akmolinsensis* обычно обитает на более засоленных местах), а ареалы в значительной степени совпадают. Основная часть ареала *L. akmolinsensis* расположена в Северном Казахстане, откуда он и был описан. В Сибири этот вид встречается редко, отмечен лишь в немногих пунктах в Хакасии, Туве и Иркутской области. Следовательно, *L. akmolinsensis* может быть внутривидовым таксоном в составе *L. paboanus*, а его формирование обусловлено приспособлением к обитанию на сильно засоленных почвах. Это косвенно подтверждается антоциановой окраской колоса *L. akmolinsensis*, которая характерна для многих растений солонцов и солончаков, а также может быть следствием воздействия низких температур и интенсивной инсоляции. Это подтверждает необходимость детального изучения филогенетических отношений *L. paboanus*, *L. akmolinsensis* и *L. chinensis*.

На основе полученных данных можно высказать гипотезу, что изначально в классическом местообитании *L. ordensis* могла существовать популяция, в которой *L. chinensis* произрастал в контакте с другим видом рода. Нельзя исключить присутствие в дан-

Таблица 4

Видовая принадлежность морфологических признаков растений природных смешанных популяций

Популяция	Предварительное определение (по Пешковой, 1990)	Отношение длин кол. и цвет. чешуй $k_1 = L_{\text{кч}}/L_{\text{цв}}$	Неравность кол. чеш. $k_2 = L_{\text{min}}/L_{\text{max}}$	Расставленность кол. чеш.	Опушение цвет. чеш.	Длина остей цвет. чеш., мм	Состояние пыльников	Наличие семян
AUKL-0601	<i>L. paboanus?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.5–0.83	0.4–0.54	расставленные	слабо опушенные	0.5–2	малое число открытых пыльников	–
АКАЛ-0611	<i>L. akmolinsensis?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.5–0.8	0.4–0.8	расставленные	слабо опушенные	0.5–2	закрытые	
ATHL-0602	<i>L. paboanus?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.376–1	0.3–0.5	расставленные	слабо опушенные	до 1.5		+
ATRL-0612	<i>L. paboanus?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.25–0.83	0.66–0.86	сближенные	густо-беловолосистые	до 1.5	малое число открытых пыльников	+
ATRL-0614	<i>L. akmolinsensis?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.376–1	0.3–0.625	сближенные и расставленные	голые, гладкие	0.5–2	закрытые	–
ATRL-0650	<i>L. paboanus?</i> <i>L. ordensis?</i>	0.43–0.86	0.66–1	сближенные	густо-беловолосистые	до 4	закрытые	–

Примечание: Колосковые чешуи: сближенные, признак *L. paboanus* и *L. akmolinsensis*; расставленные, признак *L. ordensis*; Цветковые чешуи: ости длинные до 4 мм, признак *L. dasystachys* и *L. ovatus*; средние до 1.5 мм, признак *L. paboanus*; короткие 0.5–2 мм, признак *L. akmolinsensis* и *L. ordensis*; опушение — густо-беловолосистые, признак *L. paboanus*; голые и слабо опушенные, признак *L. akmolinsensis*.

ном местонахождении особей (генотипов), близких к казахстанскому *L. akmolinsis*. В результате многократной гибридизации образовалось большое число

уникальных рекомбинантных генотипов, сочетающих те или иные признаки. Часть из них могли быть описаны как самостоятельный вид *L. ordensis*.

ВЫВОДЫ

Сравнительно-морфологический анализ диагностических признаков подтвердил значительное сходство изотипов *L. ordensis* и гербарных образцов *L. akmolinsis*. Выборка из популяции ORDL-0430, расположенной в классическом местонахождении *L. ordensis*, сходна, а по некоторым признакам идентична выборке из популяции *L. chinensis* OLHL-0409 с острова Ольхон, и достоверно отличается от изотипов *L. ordensis*. Типовой гербарный материал не отражает пределов внутривидовой изменчивости *L. ordensis*.

Данные по анализу полипептидных спектров запасных белков эндосперма не подтверждают, но и не опровергают возможность генетической обособленности популяции ORDL-0430 от изученных популяций *L. chinensis*. Каждая популяция характеризовалась специфическим составом компонентов спектра, что свидетельствует о множественном аллелизме соответствующих генов. Тем не менее, наибольший полиморфизм как по проламиновым белкам, так и по высокомолекулярным субъединицам глютелина отмечен в популяции ORDL-0430.

Изучение спектров гистона H1 у образцов популяций *L. ordensis* ORDL-0430 и *L. chinensis* OLHL-0409 позволило установить отсутствие выраженной

видоспецифичности и высокую неоднородность субфракционного состава спектров, включающих большое число неповторяющихся субфракций. Более высокий полиморфизм гистона H1 выявлен в популяции ORDL-0430.

На основе данных морфологического и электрофоретического анализов можно высказать гипотезу, что в классическом местонахождении *L. ordensis* изначально существовала смешанная популяция, в которой *L. chinensis* произрастал в контакте с другим видом рода (предположительно *L. akmolinsis*). Перекрестный тип опыления, характерный для видов *Leymus*, стал причиной возникновения гибридных особей. Их дальнейшая репродукция внутри популяции, сопровождаемая процессами генетической рекомбинации и интрогрессии, вероятнее всего, обусловила появление большого числа морфологически отклоняющихся морфотипов. В свете этой гипотезы видовая самостоятельность *L. ordensis*, описанного по нескольким гербарным образцам, требует дополнительного обоснования.

Авторы выражают признательность Д.Е. Герус за помощь в проведении электрофоретических исследований. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 04-04-48720, 04-04-48493.

ЛИТЕРАТУРА

- 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., Костина Е.В. Морфологическая изменчивость и полиморфизм белков эндосперма и гистона H1 у типичных и отклоняющихся природных форм *Elymus caninus* (L.) L. (Poaceae) // Сиб. экол. журн. 2003. № 1. С. 17–27.
- Бадмаева Н.К. Род Колосняк (*Leymus*, Poaceae) в Сибири // Материалы всероссийской научной конф. с межд. участием, г. Улан-Удэ, 7–11 сент. 2004 г. Улан-Удэ. 2004. Ч. 1. С. 110–112.
- Бадмаева Н.К., Яблонская Е.С., Агафонов А.В. Изменчивость диагностических признаков в Сибирских популяциях комплекса *Leymus ramosus* — *L. chinensis* // Сиб. ботан. вестник: электронный журнал. 2006. Т. 1, вып. 1. С. 59–63. <http://journal.csbg.ru>.
- Герус Д.Е., Агафонов А.В. Биосистематический анализ происхождения некоторых таксонов и морфологически отклоняющихся форм, близких к *Elymus caninus* и *E. mutabilis* // Там же. С. 67–76.
- 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.
- Пешкова Г.А. Новые виды рода *Leymus* (Poaceae) из Сибири // Бот. журн. 1985. Т. 70. № 11. С. 1554–1557.
- Пешкова Г.А. Колосняк — *Leymus* Hochst. // Флора Сибири. Новосибирск. 1990. Т. 2. С. 41–53.
- Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л. 1976. 788 с.
- Agafonov A.V., Baum B. R. Variation of endosperm proteins in the complex of *Elymus trachycaulus* (Link) Gould ex Shinnars // Triticeae III (Ed. Jaradat A.A.), Enfield, New Hampshire, Science Publishers. 1998. P. 273–282.