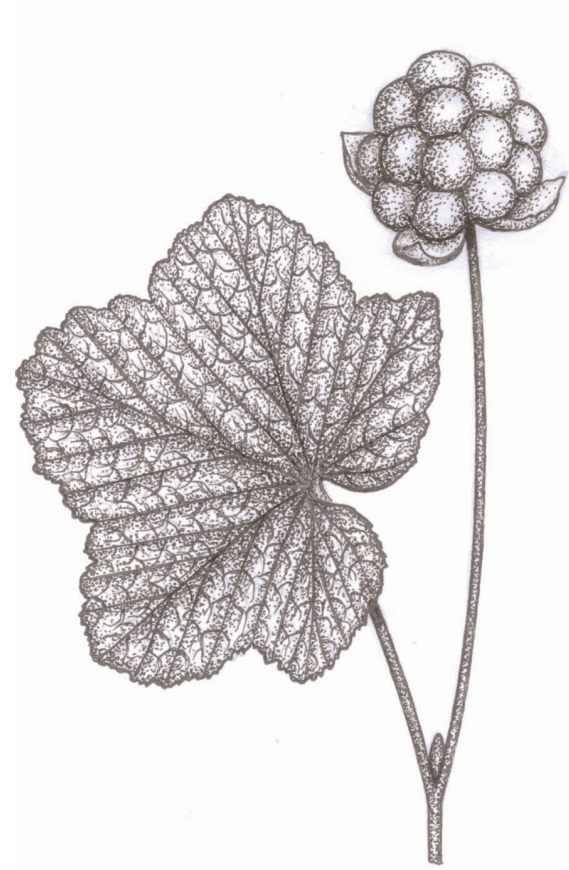




РУССКОЕ БОТАНИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

XII съезд



**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ПРОБЛЕМЫ БОТАНИКИ
В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**

ЧАСТЬ 3

Петрозаводск
2008

РУССКОЕ БОТАНИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
КАРЕЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАН
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАН
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



XII СЪЕЗД
РУССКОГО БОТАНИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ПРОБЛЕМЫ БОТАНИКИ
В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**

МАТЕРИАЛЫ ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
(Петрозаводск, 22–27 сентября 2008 г.)

Часть 3

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМАТИКА И БИОСИСТЕМАТИКА
ФЛОРА И СИСТЕМАТИКА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ
ПАЛЕОБОТАНИКА
КУЛЬТУРНЫЕ И СОРНЫЕ РАСТЕНИЯ
БОТАНИЧЕСКОЕ РЕСУРСОВЕДЕНИЕ И ФАРМАКОГНОЗИЯ
ОХРАНА РАСТИТЕЛЬНОГО МИРА**

ПЕТРОЗАВОДСК
2008

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БОТАНИКИ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА: Материалы всероссийской конференции (Петрозаводск, 22–27 сентября 2008 г.). Часть 3: Молекулярная систематика и биосистематика. Флора и систематика высших растений и флористика. Палеоботаника. Культурные и сорные растения. Ботаническое ресурсосведение и фармакогнозия. Охрана растительного мира. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. 419 с.

ISBN 978-5-9274-0329-5

В 6 книгах представлены материалы Всероссийской научной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века», проведенной в рамках XII съезда Русского ботанического общества. Их содержание отражает состояние современной ботанической науки в России. Распределение материалов по 17 секциям проведено программным комитетом с учетом мнения авторов. Материалы каждой секции являются фактически самостоятельными сборниками статей, и все они в свою очередь сгруппированы в 6 частей. Часть 1 – «Структурная ботаника», «Эмбриология и репродуктивная биология». Часть 2 – «Альгология», «Микология», «Лихенология», «Бриология». Часть 3 – «Молекулярная систематика и биосистематика», «Флора и систематика высших растений», «Палеоботаника», «Культурные и сорные растения», «Ботаническое ресурсосведение и фармакогнозия», «Охрана растительного мира». Часть 4 – «Сравнительная флористика», «Урбановфлора». Часть 5 – «Геоботаника». Часть 6 – «Экологическая физиология и биохимия растений», «Интродукция растений».

Редакционная коллегия:

Багмет Л.В., Буданцев Л.Ю., Гельтман Д.В., Головнева Л.Б., Дорофеев В.И., Камелин Р.В., Пунина Е.О., Родионов А.В., Смекалова Т.Н., Сысоева М.И., Тимофеева В.В., Шипилина Л.Ю.

Съезд и Конференция проведены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Президиума РАН, Отделения биологических наук РАН, Санкт-Петербургского научного центра РАН, Карельского научного центра РАН

ISBN 978-5-9274-0329-5

С Е К Ц И Я

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМАТИКА
И БИОСИСТЕМАТИКА**



НОВАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ТАКСОНОМИИ РОДА *GOSSYPIUM* L. (ХЛОПЧАТНИК)

Абдуллаев А.А., Ризаева С.М., Эрнazarова З.А., Клят В.П., Курязов З.Б.

Ташкент, Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз

Цель настоящей статьи – разработка естественной классификации видов рода *Gossypium* L. на основе анализа литературных данных и результатов многолетних экспериментальных исследований, включающих изучение родственных связей и филогенетического развития таксонов различного уровня. Осветить систематику и свой взгляд на современную классификацию П.Фрикеля (1992).

Анализируя имеющийся в настоящее время литературный материал отечественных авторов, доступной информации о зарубежных исследованиях (Мауера 1954; Фриксел 1969,1992; Валичек 1979; Дариев, Абдуллаев, 1985) а также всесторонние многолетние собственные исследования сотрудников лаборатории мы предлагаем конспект новой классификации, в основу которой положена система Ф.М.Мауера – основоположника работ систематики, эволюции и филогении хлопчатника.

Обоснованием предлагаемой нами системы в дальнейшем изложении послужат результаты морфологических, анатомических, цитологических, генетических, кариологических, биохимических исследований, а также использование географических и экологических критериев.

Род *Gossypium* L. в предлагаемом нами варианте нового конспекта классификации включает 57 видов, распределенных как у Ф.М.Мауера в три обособленные группы, представляющие собой филогенетические ветви, произошедшие в разное время от одного общего предка. Виды каждого из подродов разбиты по степени родства на секции и подсекции. Состав и объем рода представлен на схеме. В состав рода включены все новые виды не известные Ф.М.Мауеру, найденные в конце XX столетия.

Виды рода *Gossypium* L. в нашей концепции распределены в 3 подрода (вместо 4-х у Фрикеля, 1992), расположение и название которых соответствуют классификации Ф.М.Мауера (1954). Подрод *Eugossypium* Tod. объединяет группу диплоидных эндемичных видов Африки, Аравии, Азии и соседних с ними островов, включает 19 представителей (вместо 14 по Фрикелю и 11 – по Мауеру), распределенные нами в 4 секции: *Indica* и *Pseudopambak* с 3-мя подсекциями, *Triphylla* и *Serrata*, включающих по одному виду – *G.triphyllum* и *G.trifurcatum*, соответственно. В секцию *Indica* мы, в отличие от П.Фрикеля (1992), возвратили секцию *Curtiloba* Hochr., но в несколько другом составе, оставив здесь *G.ellenbeckii* и *G.bakeri*, не признанные П.Фрикелем, и включили сюда *G.soudanense*.

G.soudanense Watt. является до настоящего времени мало изученным и спорным видом. На основании морфологических различий и результатов скрещиваний *G.soudanense* с *G.herbaseum*, показывающих его обособленность, Ф.М.Мауер (1954) высказал предположение, что *G.soudanense* является родоначальником группы африканских хлопчатников и был введен в культуру древними земледельческими народами. Большинство исследователей не признают его самостоятельность, а считают формой *G.arboreum* (Hatchinson, 1947; Фриксель, 1969; Тер-Аванесян, 1973).

О близком родстве *G.soudanense* с *G.arboreum* свидетельствует и отсутствие отличительных признаков в структуре семени, зародыша, частей околоцветника, коробочек, древесины побегов, а также темпы формирования и развития интегументов семян (Коланов, 1986; Клят, Березина, 1997). В то же время кариологические исследования выявили наличие в диплоидном наборе *G.soudanense* 3-х пар спутничных хромосом, характерных только для этого вида (Жумашев, 1996). Поскольку вопрос остается спорным, считаем правильным поддержать мнение Ф.М.Мауера (1954) и оставить *G.soudanense* в составе рода в ранге самостоятельного вида.

Что касается *G.ellenbeckii* и *G.bakeri*, исключенных П.Фрикелем (1969, 1992), то мы вернули их вслед за Ф.М.Мауером в состав рода, признавая спорность и малую изученность и, особенно *G.bakeri* Watt. Первый из них был собран Элленбеком в 1990–1991 годах в Сомали на плоскогорье Галла в кустарниках. Второй – *G.bakeri* собран С.Н.Бакер в 1921 г. в Синде, Карачи и Индии, описан Jomn, без характеристики репродуктивных органов – венчика, плодов и семян в виду их отсутствия. По нашему мнению и предварительным данным *G.bakeri*, включенный Ф.М.Мауером в род *Gossypium* L. не является хлопчатником, а относится к роду *Senega Cav.*, хотя морфологически схож со старосветскими видами (Дариев, Абдуллаев, 1985).

В подсекцию *Anomala*, секции *Indica* мы включили 3 представителя (вместо 2-х) – *G.anomalum*, *G.barbosanum*, *G.capitis-viridis*. На основании большого сходства 2-х последних видов, Фриксель (1992) признал их одним видом – *G.capitis-viridis*. Наши данные говорят в пользу самостоятельных обоих видов.

Выделение П.Фрикелем (1992) *G.triphylla* из подсекции *Anomala* в самостоятельную монотипную секцию *Triphylla* (Prokh.) Fruh. считаем правильным. Это единственный вид в роде *Gossypium*, который имеет тройчатые, сильно рассеченные листья и очень узкий ареал в юго-западной Африке – от Южной Анголы до Намибии и произрастает в крайне засушливых условиях.

В отличие от П.Фрикеля (1992), мы восстанавливаем в подроде *Eugossypium* секцию *Pseudobambak*, включая сюда 3 подсекции, 2 из которых – *Erecta* и *Longiloba* выделены сравнительно недавно. Подсекция *Pseudopambak* включает не 7 видов (как у Фрикеля), а 4 (3). Из них 3 – *G.incanum*,

G.somalense, *G.areysanum*, *G.benadiriese* считаем правильным выделить в отдельную подсекцию *Erecta* (Дариев, Абдуллаев, 1985), на том основании, что они в отличие от других, являются прямостоячими кустарниками 2–3 м высоты, имеющими сильные или слабо 3-х лопастные листья, и аллопатрическое распространение. В подсекции *Pseudopambak* остаются *G.stocksii* и 3 новых вида, представленных П.Фрикселем (1992) в последней классификации – *G.benadiriese*, *G.bricchetii* и *G.vollesenii*, не изучавшихся нами. Из литературных данных известно, что *G.bricchetii* был отнесен Ульбрихом (1912) к роду *Cienfuegosia*, *G.benadiriese* описан Mattei, а *G.vollesenii* описали Воллесен и П.Фриксель в 1987 г. Включение этих видов в подсекцию *Pseudopambak* основано на ограниченном материале и несет пока условный характер. Подсекция *Longiloba* Фрх. является монотипной, ее представитель *G.longicalyx* D.V.Hutch. – лазающий кустарник, произрастающий в более влажных условиях по сравнению с другими видами рода в кустарниковых зарослях Восточной Африки (Судан, Уганда, Танзания). Этот вид был неизвестен Ф.М.Мауеру, так как был описан Hutchinson в 1958 году.

Род *Gossypium* L.

А Подрод *Gossypium* Tod.

Секция *Indica* Tod.

- Подсекция *Indica* Tod.: *G.herbaceum* L., *G.arboreum* L.
Подсекция *Curtiloba* Mauer: *G.neglectum* (Tod.) Mauer,
G.soudanense Watt., *G.ellenbeckii* (Gurke) Mauer, *G.bakeri* Watt.
Подсекция *Anomala* Tod.: *G.anomalum* Wawra et Peyr.,
G.barbosanum Phill, *G.capitis-viridis* Mauer

Секция *Pseudopambak* Prokh. ampl.m.

- Подсекция *Pseudopambak* (Prokh.) Fryx.: *G.stocksii* Mast.,
G.bricchetii (Ulbr.) Vollesen, *G.vollesenii* Fryx.
Подсекция *Erecta* Dar. et Abd.: *G.incanum* (Schwartz) Hille.
G.somalense (Gurke)J.B.Hutch, *G.areysianum* Defl.,
G.benadiriese Mattei.
Подсекция *Longiloba* Fryx.: *G.longicalyx* Hutch et Lee

Секция *Triphylla* (Prokh.) Fryx.: *G.triphyllum* (Harv. et al.) Hochr.

Секция *Serrata* Fryx. sec.now.: *G.trifurcatum* Vollesen

В Подрод *Houzingenia* Fryx.

Секция *Houzingenia* Fryx.

- Подсекция *Houzingenia* Fryx.: *G.trilobum* Moc.et Seese ex Skovs, *G.thurberi*
Подсекция *Integrifolia* Tod.: *G.dawidsonii* Kell., *G.klotzschianum* Anderss
Подсекция *Caducibracteolata* Mauer: *G.armourianum* Kearney,
G.harknessii Brandg, *G.thurneri* Fryx.

Секция *Erioxylum* (Rose and Standley) Prokh.

- Подсекция *Selera* (Ulbr) Fryx. *G.gossypoides* (Ulbr.) Standley
Подсекция *Erioxylum*: *G.aridum* (Rose and Standley),
G.schwendimanii Fryxell et al.
Подсекция *Lobata* Dar. et Abd. sec.now.: *G.laxum* (Rose and Standley),
G.lobatum Gentry
Подсекция *Austroamericana* Fryx.: *G.raimondii* Ulbr.

С Подрод *Karpas* Rob.

- Секция *Magnibracteolata* Tod: *G.hirsutum* L., *G.barbadense* L.,
G.darwinii (Watt.)Mauer, *G.tomentosum* Nutt. ex Seem.,
G.palmeri Watt., *G.glabrum* Lam., *G.mustelinum* Miers ex Watt.

Д Подрод *Sturtia* (R.Br.) Tod.

- Секция *Sturtia* (R.Br.)Tod.: *G.robinsonii* F.Muell., *G.sturtianum* Willis,
G.nandewarensis (Der.)Fryx.

Секция *Hibiscoidea* Tod. : *G.australe* F.Muell., *G.nelsonii* Fryx., *G.bickii* Prokh.

- Секция *Grandicalyx* Fryx.: *G.cunninghamii* Tod., *G.timorense* Prokh.,
G.costulatum Tod., *G.pulchellum* (C.A.Gardner) Fryx.,
G.exiguum Fryx., *Grawen* at Stewart, *G.pilosum* Fryx.,
G.londondoriense Fryx. et al., *G.rotundifolium* Fryx. et al.,
G.enthyale Fryx. et al., *G.nobile* Fryx. et al.,
G.marchantii Fryx. et al., *G.populifolium* (Benth.) F.Muell.

Следующая секция подрода *Serrata* Fryx. образована П.Фрикселем (1992) для нового вида – *G.trifurcatum*, найденного в пустынных районах восточного Сомали, описанного Воллесеном (1987) и мало изученного. Он резко отличается от других рода *Gossypium* L. зубчатыми листьями и, по мнению П.Фрикселя, может принадлежать к роду *Cienfuegosia*, что должно выясниться при дальнейшем изучении.

Подрод *Karpos* в системе Ф.М.Мауера (1954) включает 9 американских диплоидных (Д-геномы) и 5 тетраплоидных (дикие и культивируемые) видов Нового Света, распределенных в 2 секции и 3 подсекции. Из состава подрода П.Фриксель (1992) выделил диплоидные виды в самостоятельный подрод *Houzingenia* Fryx., пополнив их 4-мя ранее не известными видами и образовал 2 новые секции и 3 подсекции. В целом подрод *Houzingenia* в его классификации включает 13 диплоидных видов распределенных в 2 секции и 6 подсекций. Тетраплоидные виды (2n=52) в составе 5 оставлены в подрode *Karpos*. Эти изменения являются обоснованными и целесообразными. Возражение вызывает объединение П.Фрикселем (1992) в подсекции *Erioxylum* 4-х видов – *G.aridum*, *G.lobatum*, *G.laxum*, *G.schwendimani*. На основании ряда отличительных морфологических и анатомических признаков вегетативных и генеративных органов, а также эколого-географических критериев (Абдуллаев и др., 1978) А.С.Дариев и А.А.Абдуллаев (1985) предлагают выделить *G.lobatum* и *G.laxum* в самостоятельную подсекцию *Lobata* Dar.Abd. На основании полученных экспериментальных данных и гибридологического анализа мы предлагаем в ранг самостоятельных видов возвести *G.palmeri* Watt., *G.glabrum* Lam., пополюющих подрод *Karpos*.

В настоящее время подрод *Sturtia* объединяет в своем составе 17 австралийских видов хлопчатника (у Мауера 10). Несмотря на длинную историю изучения австралийские виды до настоящего времени можно считать мало изученными, за исключением 6 его представителей – *G.sturtia*, *G.nandewarense*, *G.robinsonii*, *G.australe*, *G.nelsonii*, *G.bickii*. Родовая принадлежность многих австралийских видов до середины XX века оставалась неясной, а отдельных представителей, найденных и описанных сравнительно недавно, и до настоящего времени. За основу своей классификации австралийских видов Ф.М.Мауер (1954) условно принял классификацию *Todaro* (1877), упразднив секцию *Sturtia* и дополнив секцию *Hibiscoidea* тремя видами – *G.sturtianum* Muel., *G.bickii* Prokh., *G.timorense* Prokh. Все 10 известных тогда видов описаны им по гербарному материалу, за исключением *G.sturtii*, который изучался в коллекции живых растений. В состав подрода считаем правильным вернуть *G.timorense*, признанный Ф.М.Мауером (1954). Подрод значительно пополнен новыми, ранее неизвестными видами, найденными и описанными П.Фрикселем и австралийскими учеными в 1985–1987 гг.

З.А.Эрназаровой (1995) на основе результатов исследований с использованием методов сравнительной морфологии, цитологии, кариологии и отдаленной гибридизации 6 представителей подрода *Sturtia* выявлена некоторая обособленность *G.bickii* и на этом основании предложено выделить этот вид в отдельную от *G.australe* и *G.nelsonii* подсекцию. Установлено более близкое филогенетическое родство *G.sturtianum* с *G.nandewarense*, *G.australe* с *G.nelsonii* и обособленность *G.robinsonii* и *G.bickii*. Результаты гибридизации подтвердили правильность возведения П.Фрикселем (1992) разновидностей *sturtianum* и *nandewarense* в ранг самостоятельных видов.

В заключении следует сказать, что работы по систематике рода *Gossypium* L. будут продолжаться, а классификация дорабатывается по мере изучения малоизученных и неизученных видов рода *Gossypium* L., отсутствующих в настоящее время в нашей коллекции.

Литература

- Мауер Ф.М. Происхождение и систематика хлопчатника. // Кн. Хлопчатник, Т.1, Ташкент, 1954, 383 с.
 Абдуллаев А.А., Лемешев Н.К., Узаков Ю.Ф. Мексиканские виды хлопчатника. Т.: Фан, 1978, 40 с.
 Валичек П. Систематика и филогения хлопчатника. Докторская диссертация, Ташкент, 1979, 287 с.
 Дариев А.С., Абдуллаев А.А. Хлопчатник (анатомия, морфология, происхождение). Ташкент, 1985, 302 с.
 Vollesen, R. The native species of *Gossypium* (Malvaceae) in Africa, Arabia and Pakistan. *Kew Bull* 42: 1987, 337–379.
 Fryxell P. A classification of *Gossypium* L. (Malvaceae) Reprinted from *Taxon*. 1969, 18(5), P. 585–591.
 Fryxell P. A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L. (Malvaceae) // *Rheedea*, 1992, V. 2(2), P. 108–165.
 Hutchinson J.B. Notes on the classification and distribution of genera related to *Gossypium*, *New Phytol*, V. 40, 1947, N 1, P. 123–141.
 Тер-Аванесян Д.В. Хлопчатник. Д.: Колос, 1973.
 Коланов У. Изучение диплоидных культивируемых видов хлопчатника в связи с их дифференциацией. Автореферат канд.дисс., 1986, 20 с.
 Клят В.П., Березина И.А. Развитие и строение семенной кожуры у представителей рода *Gossypium* (Malvaceae) // Тр. междунар.конфер. С.-Пб., 1997, С. 70–71.
 Жумашев М.М. Кариосистематика внутривидовых таксонов старосветских культивируемых видов хлопчатника. Автореф. канд.дисс., 1996, 24 с.
 Ulbrich E. *Malvaceae africanae novae* 5, *Cienfuegosia* Cav. *G.brickeretir* Ulbr.sp.nov A.Engliger, 1912, Bd.48.55.378–379.
 Todaro Aug., 1877–1878, *Relazione sulla cultura dei cotonei in Italia seguita da una monografia del genere Gossypium*, Roma.
 Эрназарова З.А. Межвидовое родство С- геномных хлопчатников и их филогенетические взаимоотношения с Д- геномными видами. Автореферат канд. Дис., 1995, 24с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА GISH ДЛЯ АНАЛИЗА БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ГЕНОМОВ ТЕТРАПЛОИДНЫХ И ГЕКСАПЛОИДНЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦЫ

Амосова А.В., Бадаева Е.Д.

Москва, Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН

Пшеница относится к наиболее древним видам растений, возделывавшихся человеком. Предполагают, что тетраплоидные виды пшеницы впервые образовались около 500 тыс. лет назад, тогда как возраст гексаплоидных форм оценивается приблизительно в 8–10 тысяч лет (Feldman 2001). Твердая и мягкая пшеница являются сложным аллополиплоидами, образовавшимися в процессе естественной гибридизации с последующим удвоением числа хромосом. Образование тетраплоидной пшеницы сопровождалось рядом хромосомных перестроек, в том числе комплексной транслокацией 4A-5A-7B и перичентрической инверсией хромосомы 4A (Naranjo *et al.* 1987; Jiang and Gill 1994; Devos *et al.* 1995), тогда как возникновение гексаплоидных видов не связано с крупными абберациями хромосомными.

С помощью геномного анализа было выяснено, что один геном является общим для всех пшениц – геном А; у твердой и мягкой есть два общих генома (А и В) и, наконец, у мягкой присутствует также геном D. Таким образом, геномная формула однозернянки – AA, твердой – BBAA, мягкой пшеницы – BBAAADD (Kihara 1975). Предком А-генома полиплоидных пшениц послужил дикорастущий диплоидный вид *T. urartu* (Конарев *et al.* 1974; Dvorak *et al.* 1988). Точный донор В-генома пшеницы до сих пор не найден, однако считается, что из ныне существующих видов злаков наиболее вероятным предком полиплоидной пшеницы является *Ae. speltoides* (Бадаева 2001). Существует множество доказательств, что D-геном мягкой пшеницы был унаследован от дикорастущего вида *Ae. tauschii* (Dvorak *et al.* 1998).

Геномная гибридизация *in situ* (GISH) – вариант метода гибридизации *in situ*, разработанный в начале 90-х г.г. для изучения полиплоидных видов растений (Ananthawat-Jonsson *et al.* 1990; Heslop-Harrison and Schwarzacher 1996). В качестве зонда в GISH используют геномную ДНК одного или двух родительских видов (в случае гексаплоидов). Метод широко используется для разделения хромосом разных геномов у полиплоидных видов, а также при анализе межгеномных замещений или транслокаций. GISH оказывается особо информативной в том случае, когда хромосомные перестройки не удается выявить методами дифференциального окрашивания или флуоресцентной гибридизации *in situ*.

GISH успешно используется при анализе гибридов, содержащих неродственные геномы, например ржи и пшеницы. В то же время, его применение для разделения близкородственных геномов, которые в процессе длительной эволюции полиплоида могли приобрести общие последовательности ДНК, является трудновыполнимой задачей (Iqbal *et al.* 2000). В то же время, при исследовании обширной коллекции дикорастущей тетраплоидной *Triticum dicoccoides* методом С-бэндинга было выявлено множество вариантов межгеномных транслокаций хромосом, локализацию точек разрывов которых было сложно идентифицировать по рисункам окрашивания.

Нами была предпринята попытка разработки такой модификации метода GISH, которая позволила бы четко разделить А-, В- и D-геномы пшеница для выявления межгеномных хромосомных перестроек. Суть разработанного метода заключалась в следующем:

Геномную ДНК выделяли СТАВ- методом из зеленых листьев и стеблей. ДНК *T. boeoticum* метили биотином (biotin-16-dUTP) с помощью ник-трансляции в соответствии с протоколом фирмы-производителя (Roche, Germany). Для подавления кросс-гибридизации использовали геномную ДНК *Ae. speltoides*, обработанную ультразвуком до получения фрагментов размером около 500 нп.

Для более четкого разделения геномов проводили прианнелинг пробы и пред-гибридизацию препаратов. Пробу готовили следующим образом: меченую геномную ДНК (40нг на 1 хромосомный препарат) и равное количество блокирующей ДНК растворяли в гибридизационной смеси (10% w/v декстран сульфат, 50% v/v формамид, 1% v/v tween, 2xSSC). в общем объеме 15 мкл. Полученную смесь денатурировали при 85°C в течение 5 минут, быстро охлаждали на льду, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов.

Для проведения пред-гибридизации 40нг блокирующей ДНК (на 1 хромосомный препарат) растворяли в гибридизационной смеси в общем объеме 15 мкл, денатурировали при 85°C в течение 5 минут, а затем быстро охлаждали на льду. Хромосомные препараты денатурировали в растворе формамида (70% v/v формамид в 2x SSC) при 74°C 3 минуты, проводили через серию холодных спиртов и высушивали на воздухе. Подготовленную смесь наносили на препарат, накрывали покровным стеклом и помещали во влажной камере в термостат на 2 часа при 37°C.

С препаратов удаляли покровное стекло, и при тех же условиях проводили гибридизацию с пробой ДНК, прошедшей прианнелинг.

Через 16–18 часов проводили отмывку хромосомных препаратов и выявление сайтов гибридизации, используя соответствующие системы для выявления биотина и дигоксигенина при помощи антител, конъюгированных с флуоресцеином или Техасским красным.

Затем хромосомные препараты обезвоживали, проводя через серию холодных спиртов, высушивали на воздухе и заключали в DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), растворенном в концентрации 2mg/ml в среде Vectashield (Vector laboratories, Peterborough, UK). Препараты анализировали на микроскопе Olympus BX61 с использованием CCD-камеры (Cool Snap, USA). Полученные изображения хромосом обрабатывались с помощью Adobe Photoshop

Разработанная модификация метода геномной гибридизации *in situ* (GISH) позволила получить четкое и воспроизводимое разделение близкородственных геномов как в тетраплоидных, так и гексаплоидных видах пшеницы. Метод был использован для анализа межгеномных транслокаций 6A:6B и 1A:6B, выявленных у образцов IG46147 и IG116188 *T. dicoccoides* с помощью С-бэндинга GISH показал, что обе транслокации являются реципрокными. В случае Т6А:6В транслокации точки разрывов располагались в середине длинного плеча хромосомы 6А и в коротком плече 6В хромосомы вблизи района вторичной перетяжки. Дистальная часть короткого плеча, включая спутник, была перенесена в длинное плечо хромосомы 6А, а дистальная половина длинного плеча 6А – в короткое плечо 6В хромосомы.

По результатам С-бэндинга было невозможно установить, является ли транслокация 1А:6В реципрокной или же в этом случае произошел однопольный перенос фрагмента длинного плеча 6В в короткое плечо 1А хромосомы. С помощью геномной гибридизации *in situ* было показано, что обмен участками хромосом был взаимным, однако в длинное плечо 6В был перенесен лишь небольшой участок хромосомы 1А, тогда как транслоцированный фрагмент в 1А хромосоме составлял свыше 2/3 длины плеча. Таким образом, усовершенствованный вариант метода GISH позволил уточнить структуры перестроенных хромосом в двух вариантах транслокаций и определить точки разрывов на хромосомных плечах.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-00302-а).

Литература

- Anamthawat-Jonsson K, Schwarzhacher T, Leitch A.R., Bennett M.D., Heslop-Harrison J.S. Discrimination between closely related Triticeae species using genomic DNA as a probe //Theoretical and Applied Genetics. 1990. Vol.7: P. 721–728.
- Devos K.M., Dubkovsky J, Dvorak J, Chinoy C.N., Gale M.D. Structural evolution of wheat chromosomes 4A, 5A, and 7B and its impact on recombination //Theoretical and Applied Genetics. 1995. Vol. 91. P. 282–288
- Dvorak J, Luo M.C., Yang Z.L., Zhang H.B. The structure of the *Aegilops tauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat //Theoretical and Applied Genetics. 1998. Vol.97. P. 657–670.
- Dvorak J, Mcguire P.E., Cassidy B. Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences //Genome. 1988. Vol.30. P. 680–689.
- Feldman M. Origin of cultivated wheat. In: Bonjean A.P., Angus WJ (eds) //The world wheat book A history of wheat breeding. Tec & Doc/Intersept Ltd., Londres-Paris-New York. 2001. P. 3–56.
- Heslop-Harrison J.S., Schwarzhacher T. Genomic southern and *in situ* hybridization. In: Jauhar P.P. (ed) //Methods in genome analysis in plants. Boca Ration, CRC Press, New York, London, Tokyo. 1996. P. 163–180.
- Iqbal N, Reader S.M., Caligari P.D.S., Miller T.E. The production and characterization of recombination between chromosome 3N of *Aegilops uniaristata* and chromosome 3A of wheat //Heredity. 2000. Vol. 84. P. 487–492.
- Jiang J, Gill B.S. Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* support the diphyletic origin of polyploid wheats //Chromosome Research.. 1994. Vol. 2. P. 59–64.
- Kihara H. Origin of cultivated plants with special reference to wheat //Seiken Ziho. 1975. № 25–26. P. 1–24
- Naranjo T, Roca A, Goicoechea P.G, Giraldez R Arm homoeology of wheat and rye chromosomes //Genome. 1987. Vol. 29. P. 873–882.
- Бадаева Е.Д. Хромосомный анализ при исследовании происхождения В-(G-) геномов полиплоидных пшениц //Биологические мембраны. 200.Т. 18. С. 216–229.
- Конярев А.В., Гаврилюк И.П., Мизушова Э.Ф. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиадина //Доклады ВАСХНИЛ. 1974. Т.6. С. 12–14.

СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РОДА PINUS L. (PINACEAE ADANS.) НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ СЕМЯН

Арефьева Л.П., Семихов В.Ф., Новожилова О.А., Мишанова Е.В.

Москва, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, chemosyst@list.ru

Род *Pinus* L., крупнейший в сем. Pinaceae Adans., включает более 110 видов, широко распространенных в умеренной зоне и в горных областях субтропической зоны северного полушария. Как отмечают многие исследователи (Козубов, Муратова, 1986; Орлова, 2000 и др.), пожалуй, ни один род голосеменных не подвергался столь детальному таксономическому изучению и столь многочисленным ревизиям, как род *Pinus*. Одна-

ко в систематике и филогении рода *Pinus* остается много нерешенных вопросов. Так, в системе Critchfield, Little (1971) в роде *Pinus* принято три подрода: *Strobus*, *Pinus*, *Ducamporpinus*. Вместе с тем, по мнению ряда авторов (Арефьева и др., 2000) следует признать родовой статус *Strobus* и *Pinus*. Остается нерешенным вопрос о систематическом статусе монотипного подрода *Ducamporpinus*. На основании особенностей строения хвои его родовой статус был признан Тахтаджяном (1956), Бобровым (1983), Орловой, Аверьяновым (2004). Другие исследователи (Critchfield, Little, 1971; Frankis, 1988) не подтверждают самостоятельности этого рода. По данным изучения рибосомальной ДНК (последовательность ITS) *Pinus krempfii* располагается внутри секции *Strobus*, по мтДНК вид кластеризуется с *P. gerardiana* (Zhang, Li, 2004). На биохимические признаки были исследованы 55 видов, представляющие все 3 подрода (по Critchfield, Little, 1971). Это 1 вид подрода *Ducamporpinus* (*P. krempfii*), в подроде *Pinus* исследовано 3 вида секции *Ternatae* и 34 вида из секции *Pinus*. В подроде *Strobus* исследовали 14 видов секции *Strobus* и 3 вида секции *Parrya*. На электрофоретические свойства глобулинов семян исследовали 28 видов подрода *Pinus* и 18 видов подрода *Strobus*. Основная часть компонентов электрофоретического спектра глобулинов видов рода *Pinus* располагается в диапазоне молекулярных масс от 15 до 150 кДа. Характер спектра многокомпонентный, количество компонентов более 20. Для всех исследованных видов рода характерно наличие основного мощного компонента в области 19 кДа. В большинстве случаев, за исключением *P. halepensis*, *P. pinaster* (подрод *Pinus*, секц. *Pinaster*) и *P. gerardiana* (подрод *Strobus*, секц. *Gerardianae*) характерно также присутствие компонента 44 кДа. Разнообразие видов рода по электрофоретическому спектру глобулинов проявляется в основном за счет различий в группе компонентов 28–32 кДа и за счет присутствия или отсутствия минорных компонентов в различных частях спектра. На основании электрофоретических данных с помощью программы PAST ver.1.67 (Hammer et al., 2001) была построена дендрограмма методом ближайшего связывания NJ, дающая возможность комплексно оценить степень сходства между исследованными видами рода *Pinus*. Для анализа бинарных данных присутствия/отсутствия компонентов одинакового веса использовалась мера сходства Кульчинского (Hammer et al., 2001). За исключением *P. halepensis*, *P. pinaster*, *P. massoniana* большинство видов подрода *Pinus* располагаются в одном большом кластере. Второй большой кластер имеет более сложный состав. Здесь присутствуют представители подрода *Strobus*. Компактно расположены в этом кластере и очень близки *P. taeda*, *P. sabiniana*, *P. patula* (подрод *Pinus*). Еще один более отдаленный от двух больших кластеров, меньший по числу видов кластер, объединяет виды подрода *Strobus*: *P. strobus*, *P. ayacahuite*, *P. strobiformis* и *P. parviflora* (секция *Strobus*) и *P. bungeana* (секция *Parrya*). По электрофоретическим данным самым удаленным в подроде *Pinus* являются *P. massoniana*, *P. pinaster*, *P. halepensis*. Самый обособленный вид в подроде *Strobus* – *P. sibirica*.

Для оценки филогенетических отношений в роде *Pinus* использован метод двойной иммунодиффузии в геле агарозы в 2-х вариантах: на пластинках и крестом (модифицированный вариант, Арефьева и др., 2000). Для этой цели использовали две антисыворотки, полученные к альбумино-глобулиновой фракции белков семян *P. sylvestris* (подрод *Pinus*) и *P. sibirica* (подрод *Strobus*). Исследованы 43 вида рода из подродов *Pinus* и *Strobus*. Установлено, что виды подрода *Pinus* на антисыворотку к белкам *P. sylvestris* дают в основном гомологичную реакцию. Представители подрода *Strobus* на антисыворотку к *P. sylvestris* дают реакцию только частичной идентичности. Качество этих реакций резко отличается в худшую сторону от тех реакций частичной идентичности, которые дают некоторые представители подрода *Pinus* (*P. massoniana*, *P. contorta*, *P. canariensis*, *P. ponderosa*). Виды подрода *Strobus* на антисыворотку к белкам *P. sibirica* на пластинах дают мощную однокомпонентную реакцию, близкую к гомологичной. В реакциях модифицированным «крестом» обнаруживаются четкие различия между *P. sibirica* и остальными исследованными видами подрода *Strobus*, что проявляется в хорошо выраженной реакции частичной идентичности. Виды подрода *Pinus* в реакциях на пластинках и модифицированным «крестом» с антисывороткой *P. sibirica* (подрод *Strobus*), хотя и дают четко выраженные реакции частичной идентичности, но качественно отличаются от реакций видов, относящихся к подроде *Strobus*. Иммунохимические исследования, однозначно свидетельствуют о существенных различиях между подродами *Pinus* и *Strobus*. Следует также отметить, что *P. sibirica* иммунохимически не только резко отличается от исследованных видов подрода *Pinus*, но существенно отличается и от других видов подрода *Strobus*, за исключением вида *P. parviflora*.

Исследовали аминокислотный состав 30 видов из всех 3-х подродов *Pinus* (один вид из *Ducamporpinus*, 15 – из подрода *Pinus* и 14 – из подрода *Strobus*). Из данных следует, что аминокислотный состав семян видов стабилен внутри секции и подродов, о чем свидетельствуют низкие значения коэффициента вариации (V%), но четко различают подроды по этой характеристике по содержанию отдельных аминокислот. Так, содержание аргинина в подроде *Strobus* составляет 18,6%, *Ducamporpinus* – 20,5%, в подроде *Pinus* – 21,8%, а содержание глютаминовой кислоты – 19,4%, 17,4% и 15,8% соответственно, что существенно превышает вариабельность по содержанию этих аминокислот внутри подродов. Таким образом, полученные данные поддерживают представление ряда авторов (Бобров, 1983; Орлова, Аверьянов, 2004 и др.) о целесообразности разделения рода *Pinus* s.l. на три сепаратных рода: *Ducamporpinus*, *Pinus* и *Strobus*, поскольку аминокислотный состав семян в первую очередь характери-

зует родовой статус таксонов (Семихов, Новожилова, 1982; Семихов и др., 2007). Расчет обобщенного статистического расстояния показывает хорошо выраженную гетерогенность в роде *Pinus*. И хотя все подроды *Pinus s.l.* четко отличаются и от других исследованных родов семейства (самый близкий к подроду *Pinus* – род *Tsuga* имеет обобщенное статистическое расстояние – 3,30, к подроду *Strobus* – род *Cedrus* – 2,40), степень различия между подроды *Pinus* и *Strobus* имеют степень различия -4,10. Т.е., подроды *Pinus* и *Strobus* различаются больше между собой, чем с общепризнанными родами (*Cedrus*, *Tsuga* и др.). Дендрограмма иерархической кластеризации подтверждает существенные различия между обсуждаемыми подроды (Семихов и др., 2007), что в принципе, согласуется и с иммунохимическими и с электрофоретическими данными, обсужденными выше.

Работ выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48591.

Литература

- Арефьева Л.П., Семихов В.Ф., Гринаш М.Н., Новожилова О.А., Махин П.В. Иммунохимическое исследование рода *Pinus* и его взаимоотношений с другими родами семейства *Pinaceae* Lindl. // Бюл. Гл. ботан. сада РАН. 2000. Вып. 179. С. 126–132.
- Бобров Е.Г. О межродовой гибридизации в сем. *Pinaceae* // Ботан. журн. 1983. Т.68. №7–8. С.857–865.
- Козубов Г.М., Муратова Е.Н. Современные голосеменные. Л., Наука. 1986. 192 с.
- Орлова Л.В. Сосны России (систематика и география): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. С – Петербург, 2000. 20с.
- Орлова Л.В., Аверьянов Л.В. О систематическом положение *Ducamporinus krempfii* (*Pinaceae*) // *Turczaninowia*. 2004. N.7 №2. С.30–44
- Семихов В.Ф., Гвоздева Е.В., Бессчетнов В.П., Арефьева Л.П., Новожилова О.А., Гринаш М.Н. Систематика семейства *Pinaceae* Adans. с позиции аминокислотного состава семян // Ботан. журн. 2007. Т. 92. № 12. С. 1910–1924.
- Семихов В.Ф., Новожилова О.А. Таксономическая ценность аминокислотного состава семян // Ботан. журн. 1982. Т. 67. № 9. С. 1207–1215.
- Техтаджян А.Л. Высшие растения. I. От псилофитовых до хвойных. Л., 1956. 488с.
- Critchfield W.B., Little E.L. Geographic distribution of the pines of the world. Wash. (D.C.): US Dep. of Agr., 1971. 97 p.
- Frankis M.P. Generic inter-relationships in *Pinaceae* // *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh*. 1989. Vol. 46. P. 527–548.
- Hammer O., Harper D. A. T. & Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. 2001. Vol.4. № 1. 4–9 pp.
- Zhang Z.Y., Li D.Z. Molecular phylogeny of section *Parria* of *Pinus* (*Pinaceae*) based on chloroplast *matK* gene sequence data // *Acta Botanica Sinica*. 2004. Vol.46. № 2. P. 171–179.

КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕДКИХ И ЭНДЕМИЧНЫХ УРАЛЬСКИХ ВИДОВ РОДА *OXYTROPIS* DC.

Арсланова Л.Р., Калашник Н.А.

Уфа, Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

В данной работе представлены результаты кариологических исследований редких и эндемичных уральских видов рода *Oxytropis* DC.: *Oxytropis ambigua* (Pall.) DC., *O. uralensis* (L.) DC., *O. spicata* (Pail.) O. et B. Fedtsch., *O. sordida* (Willd.) Pers.

На Урале произрастает 9–10 видов рода *Oxytropis* (Васильченко, 1987; Yakovlev et al., 1996), из которых 5 видов считаются редкими и занесены в «Красную книгу Республики Башкортостан» (2001). К ним относятся в частности *O. ambigua* и *O. uralensis*. Кроме того, некоторые виды уральских остролодочников являются эндемиками, например, *O. uralensis*, *O. spicata*. *O. sordida* – вид с неопределенным статусом, предполагается занести в Красную книгу Республики Башкортостан.

Для кариологических исследований были использованы семена образцов растений, собранные в разных районах Республики Башкортостан: *O. ambigua* (Учалинский район, горы Мукагир и Туй-тюбе; Ишимбайский р-н, гора Тра-тау), *O. uralensis* (Учалинский район, восточный берег озера Аушкуль и гора Бузхангай), *O. spicata* (Кугарчинский район, г. Маяк-тау; Зианчуринский район, г. Канонникова), *O. sordida* (Белорецкий район, хребет Машак). В качестве материала использовали меристематическую ткань корешков проростков (Паушева, 1980). Материал изучали в масляной иммерсии, используя микроскоп БИМAM-P13 (объектив x100, окуляр x7, фотонасадка x1,6). Анализировали 5–15 метафазных пластинок из каждой популяции. В результате исследований определялись числа хромосом, морфометрические параметры хромосом, типы хромосом, согласно классификации В.Г. Грифа, Н.Д. Агаповой (Гриф, Агапова, 1986), и составляли идиограммы кариотипов для популяций исследуемых видов. При составлении кариотипов ориентировались на методику, описанную В.Х. Панкиным с сотр. (Панкин, 2001). Статистическая обработка данных выполнена по методике Г.Н. Зайцева (Зайцев, 1973). Степень варьирования

изучаемых признаков определяли с помощью коэффициентов вариации по шкале уровней изменчивости: очень низкий ($C_v < 7\%$), низкий ($C_v = 8-12\%$), средний ($C_v = 13-20\%$), повышенный ($C_v = 21-30\%$), высокий ($C_v = 31-40\%$) и очень высокий ($C_v > 40\%$), разработанной С.А. Мамаевым (Мамаев, 1973).

В результате проведенных нами исследований установлено, что у исследованных популяций *Oxytropis ambigua* соматическое число хромосом $2n = 32$, хромосомы метацентрического ($Ic > 40\%$) и субметацентрического ($30 < Ic < 40\%$) типов. Размеры хромосом в популяции горы Тра-тау варьируют в пределах от $2,12 \pm 0,31$ мкм до $3,39 \pm 0,93$ мкм; Мукагир – от $2,48 \pm 0,36$ мкм до $3,76 \pm 0,53$ мкм и Туй-тюбе – от $2,36 \pm 0,46$ мкм до $3,71 \pm 0,91$ мкм. Различия между соответствующими парами хромосом во всех трех популяциях по абсолютной длине хромосом и по значению центромерного индекса в основном имеют средний и повышенный коэффициент вариации, а по относительной длине хромосом – низкий. Средняя суммарная длина диплоидного набора хромосом в популяции горы Тра-тау составляет $86,77 \pm 18,06$ мкм, Мукагир – $100,02 \pm 13,23$ мкм, Туй-тюбе – $93,69 \pm 19,95$ мкм; коэффициент вариации во всех популяциях средний (популяция горы Мукагир) и повышенный (популяции гор Тра-тау и Туй-тюбе). На рисунках 1, 2 и 3 представлены идиограммы кариотипов популяций *O. ambigua*.

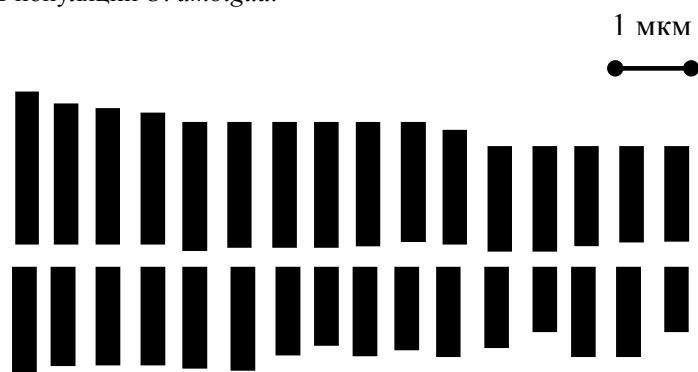


Рис. 1 Идиограмма кариотипа *Oxytropis ambigua* (гора Тра-тау)

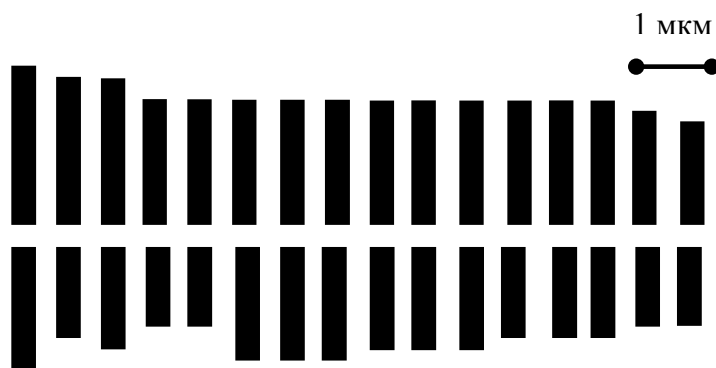


Рис. 2 Идиограмма кариотипа *Oxytropis ambigua* (гора Туй-тюбе)

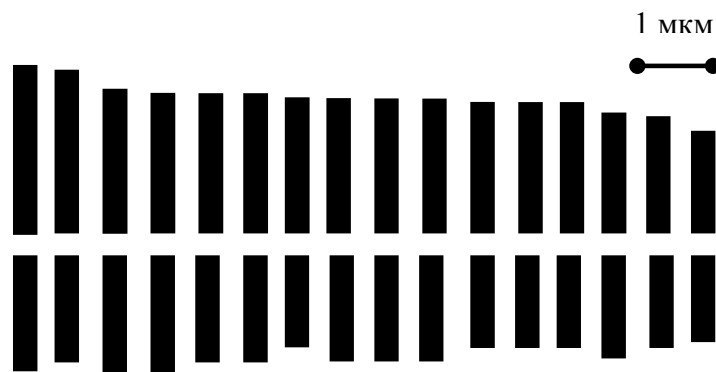


Рис. 3 Идиограмма кариотипа *Oxytropis ambigua* (гора Мукагир)

У *Oxytropis uralensis* исследованных популяций соматическое число хромосом $2n = 16$, хромосомы метацентри-

ческого типа ($I_c > 40\%$). Размеры хромосом в популяции горы Бузхангай варьируют в пределах от $2,59 \pm 0,55$ мкм до $3,87 \pm 0,67$ мкм, восточного берега оз. Аушкуль – от $2,39 \pm 0,44$ мкм до $3,43 \pm 0,49$ мкм. По абсолютной длине хромосом в популяции горы Бузхангай наблюдается средний и повышенный коэффициент вариации, восточного берега оз. Аушкуль – средний, по относительной длине хромосом в первой популяции очень низкий и низкий коэффициент вариации, во второй – очень низкий. По значению центромерного индекса у популяции горы Бузхангай очень низкий и низкий коэффициент вариации, восточного берега оз. Аушкуль очень низкий, низкий и средний коэффициент вариации. Средняя суммарная длина диплоидного набора хромосом в первой популяции составляет $52,73 \pm 10,26$ мкм, второй – $46,24 \pm 7,70$ мкм; коэффициент вариации в обеих популяциях средний. Таким образом, морфометрические параметры хромосом популяции горы Бузхангай в целом более варьируемы по сравнению с морфометрическими параметрами хромосом популяции восточного берега оз. Аушкуль. На рисунках 4 и 5 представлены идиограммы кариотипов популяций *O. uralensis*.

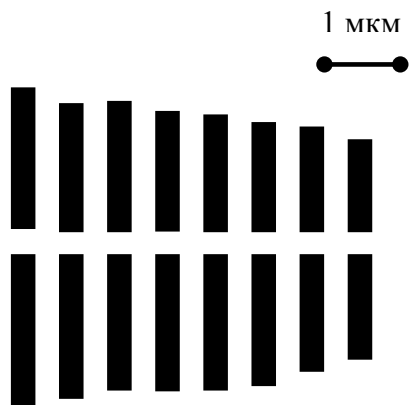


Рис. 5 Идиограмма кариотипа *Oxytropis uralensis* (гора Бузхангай)

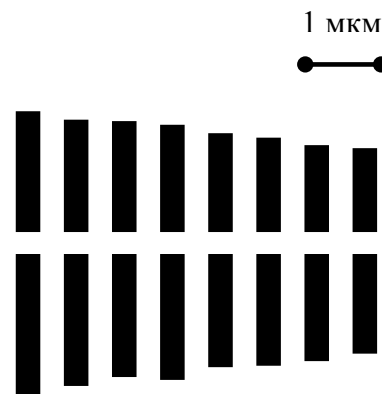


Рис. 6 Идиограмма кариотипа *Oxytropis uralensis* (озеро Аушкуль)

Установленное нами число хромосом на метафазных пластинках *Oxytropis spicata* из популяции Зианчуринского района Башкортостана составило $2n = 32$, а из популяции Кугарчинского района – $2n = 16$. В результате наших исследований установлено, что для *Oxytropis spicata* указанных популяций характерны хромосомы метацентрического типа ($I_c > 40\%$). Размеры хромосом варьируют в пределах от $1,90 \pm 0,24$ мкм до $2,91 \pm 0,20$ мкм (Кугарчинский р-н РБ), от $1,75 \pm 0,21$ мкм до $2,89 \pm 0,21$ мкм (Зианчуринский р-н РБ). По абсолютной длине хромосом в популяции Кугарчинского района наблюдается низкий и средний коэффициент вариации, Зианчуринского района – очень низкий и низкий, по относительной длине хромосом в обеих популяциях очень низкий и низкий коэффициент вариации. По значению центромерного индекса у популяции Кугарчинского района низкий и средний коэффициент вариации, Зианчуринского района – очень низкий, низкий и средний коэффициент вариации. Средняя суммарная длина диплоидного набора хромосом в первой популяции составляет $38,76 \pm 3,66$ мкм, второй – $71,74 \pm 3,82$ мкм; коэффициент вариации в популяции Кугарчинского района низкий, Зианчуринского района – очень низкий. На рисунках 6 и 7 представлены идиограммы кариотипов популяций *O. spicata*.

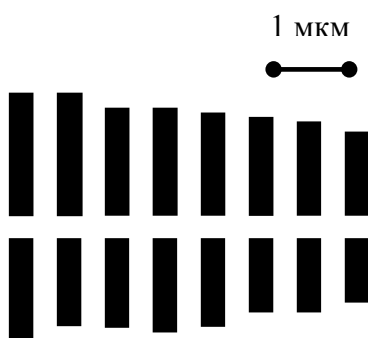


Рис. 6 Идиограмма кариотипа *Oxytropis spicata* (Кугарчинский р-н РБ)



Рис. 7 Идиограмма кариотипа *Oxytropis uralensis* (озеро Аушкуль)

Для *Oxytropis sordida* установлено, что в популяции, произрастающей на хр. Машак, $2n = 48$, хромосомы метацентрического типа ($I_c > 40\%$). Размеры хромосом варьируют в пределах от $1,57 \pm 0,14$ мкм до $2,71 \pm 0,64$ мкм. По абсолютной длине хромосом наблюдается средний (по 1, 7 – 14, 18 – 23 парам) и повышенный (по 2 – 6, 15 – 17 парам) коэффициент вариации, кроме 24-ой пары (низкий коэф-

фициент вариации), по относительной длине – низкий (по 7 – 10, 24 парам), средний (по 1 – 3, 5, 6, 11 – 23 парам), повышенный (по 24-ой паре). По значению центромерного индекса отмечается низкий коэффициент вариации, кроме 16-ой пары (средний коэффициент вариации). Средняя суммарная длина диплоидного набора хромосом в данной популяции $92,14 \pm 6,77$ мкм, коэффициент вариации низкий. На рисунке 8 представлена идиограмма кариотипа *O. sordida*.

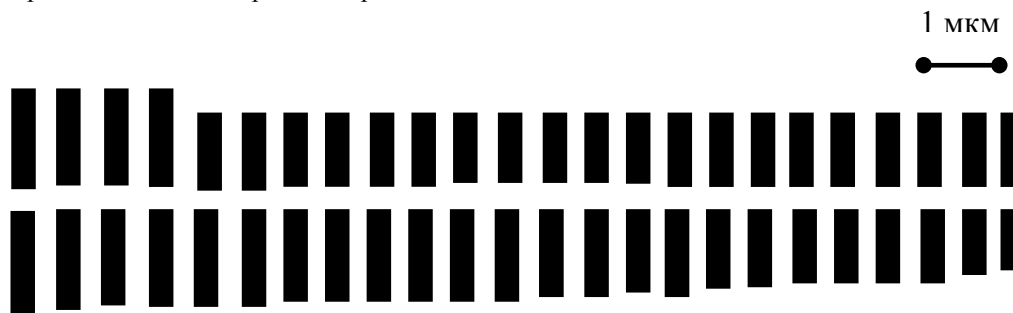


Рис. 8 Идиограмма кариотипа *Oxytropis sordida* (Белорецкий район РБ, хр. Машак)

У исследованных нами видов рода *Oxytropis* встречается следующее число хромосом: *Oxytropis ambigua* ($2n = 32$), *O. uralensis* ($2n = 16$), *O. spicata* ($2n = 16$, $2n = 32$), *O. sordida* ($2n = 48$). Полученные данные совпадают с результатами, приведенными Е.Г. Филипповым с соавт. (Филиппов и др., 1998) для *Oxytropis ambigua*, *O. uralensis*, *O. spicata*. Особый интерес вызывают данные авторов по последнему виду, согласно которым у *O. spicata* из Башкирии (Баймакский, Зилаирский р-ны), Свердловской и Челябинской областей обнаруженное число хромосом составило $2n = 16$, а у *O. spicata*, произрастающего в Оренбургской области – $2n = 32$, что, по мнению авторов, свидетельствует о полиморфизме по числу хромосом у этого вида. Наши исследования также показали, что у представителей данного вида из различных мест произрастания наблюдается разное число хромосом. Для *O. sordida* указано число хромосом $2n=48$ (Васильченко, 1987), что совпадает с полученными нами данными.

Согласно полученным нами результатам, все исследованные виды имеют специфическую структуру хромосомных наборов. У представителей *O. ambigua* и *O. uralensis* из разных местообитаний существенных различий по структуре хромосомных наборов не наблюдается. У *O. spicata* из различных местообитаний наблюдаются различия не только по числу хромосом, но и по структуре хромосомных наборов. Для *O. sordida* характерны более мелкие хромосомы и большее число хромосом по сравнению с другими исследованными видами. Полученные нами результаты по числу и морфологии хромосом уральских видов рода *Oxytropis* представляют интерес для дальнейшего обсуждения вопросов, связанных с таксономией и эволюцией данного рода.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Института биологии Уфимского научного центра РАН канд. биол. наук Мулдашеву А.А., канд. биол. наук Масловой Н.В., канд. биол. наук Галеевой А.Х. за предоставленный материал.

Литература

- Васильченко И.Т. Род Остролодочник – *Oxytropis* DC. // Флора европейской части СССР. Л., 1987. Т. 6. С. 169.
 Гриф В.Г., Агапова Н.Д. К методике описания кариотипов растений // Бот. журн. 1986. Т. 71, №4. С. 550–553.
 Красная книга Республики Башкортостан. Т.1. Редкие и исчезающие виды высших сосудистых растений. Уфа: Китап, 2001. 237 с.
 Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере семейства *Pinaceae* на Урале). М.: Наука, 1973. 284 с.
 Панкин В.Х. Применение цитогенетических критериев в систематике некоторых представителей семейства *Sastaseae* Juss. // Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. – М, 2001. –18 с.
 Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304 с.

КАРИОЛОГИЯ ФЛОРЫ САХАЛИНА И КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ: ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИЗУЧЕНИЕ

Баркалов В.Ю., Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г., Кожевникова З.В.

Владивосток, Биолого-почвенный институт ДВО РАН

В 2007 г. в Издательстве «Дальнаука» вышла в свет книга «Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, кариотаксономические и фитогеографические комментарии» (Пробатова, Баркалов, Рудыка, 2007). Этому в последнее время предшествовал ряд наших, преимущественно зарубежных, пуб-

ликаций, с оригинальными данными по числам хромосом растений Сахалина и Курильских островов (Пробатова и др., 1989; Probatova, Barkalov, Rudyka, 2004; Probatova, Barkalov, Rudyka *et al.*, 2000, 2006). Это первая книга из серии, посвященной кариологии флоры отдельных субрегионов Российского Дальнего Востока (РДВ), она посвящена инициатору исследований по кариологии флоры Сахалина (и Дальнего Востока России), известному российскому карио-географу Александре Павловне Соколовской, в содружестве с которой первый автор данного сообщения работала более 30 лет. В 2008 г. книга получила премию по номинации «Монографии, изданные в России», на Конкурсе печатных работ БПИ ДВО РАН.

Содержание нашей книги составляет полный свод и обобщение результатов всего периода изучения чисел хромосом флоры островов, начиная с 1960 гг. – с первой публикации по числам хромосом с Сахалина (Соколовская, 1960). В книге изложены данные по числам хромосом для 356 видов с Сахалина (23,4% от общего числа видов флоры этого острова) и для 257 видов – с Курильских островов (18,4% от всей флоры архипелага), также 48 видов были исследованы на о-ве Монерон. Основная часть книги отведена Аннотированному конспекту из 536 видов, исследованных на материале с Сахалина, острова Монерон и (или) Курильских островов. Для 184 видов растений числа хромосом были получены с охраняемых природных территорий этой островной области.

Конспект включает числа хромосом, сведения о происхождении и месте хранения документирующих гербарных образцов; для каждого вида приводятся эколого-географическая характеристика, распространение на Сахалине и Курильских островах и общий ареал; для многих видов приведены кариотаксономические и фито-географические комментарии. В книгу включены и впервые публикуемые (оригинальные) данные. Для родов указаны основные (базовые) числа хромосом (x). Числа хромосом рассматриваются в контексте мировых данных, что дает возможность оценить изученность конкретных таксонов, выявить кариологический полиморфизм.

Наибольшее количество данных по числам хромосом в списке приводится для семейства *Poaceae* (98 видов), где явно прослеживается преобладание полиплоидов (72%, против 28% диплоидов). Напротив, в другом крупном семействе – *Asteraceae* (65 изученных видов) преобладают диплоиды (57%, против 43% полиплоидов). Числа хромосом у подавляющего большинства видов константны, лишь немногие виды характеризуются внутривидовым полиморфизмом. В некоторых группах прослеживается более или менее выраженная изоляция островных популяций.

Ныне мы продолжаем изучение чисел хромосом, по мере поступления нового материала с Сахалина и Курил. К настоящему моменту нами получены данные для 63 видов растений (46 рода, из 22 семейств), преимущественно с о-ва Шикотан (а также – с Итурупа, Кунашира, Парамушира и о-ва Сахалин), по сборам В.Ю. Баркалова. Это первое исследование чисел хромосом на Курилах для родов *Arctium*, *Atriplex*, *Chelidonium*, *Chenopodium*, *Dianthus*, *Eupatorium*, *Galeopsis*, *Galium*, *Kitagawia*, *Lathyrus*, *Leontopodium*, *Lepidothea*, *Menziesia*, *Minuartia*, *Oenothera*, *Solidago*, *Vicia* и первые данные с Сахалина – для рода *Popoviocodonia*.

Для следующих видов числа хромосом определены впервые в науке: *Cardamine sachalinensis*, *Elymus franchetii*, *Minuartia barkalovii*, *Oxytropis calcareorum*, *Persicaria extremorientalis*, *Popoviocodonia stenocarpa* (это и первые данные для рода *Popoviocodonia*). Кроме того, новые (не известные ранее) числа хромосом установлены у *Lathyrus pilosus*, *Oxytropis hidakamontana*, *Potentilla matsumurae*. Исследован также ряд новых (еще не описанных) видов, в родах *Cardamine*, *Poa*, *Deschampsia*.

Ряд видов: *Eupatorium glehnii*, *Hemerocallis yezoensis*, *Hypericum kamtschaticum*, *Epilobium fastigiatoramosum*, *Menziesia pentandra*, *Potentilla dickinsii*, *P. matsumurae* – исследованы впервые для России.

Получены числа хромосом для ряда горных видов-эндемиков Сахалина (для первых двух – впервые): *Cardamine sachalinensis* Miyabe et Miyake, *Oxytropis calcareorum* N. S. Pavlova, *O. sachalinensis* Miyabe et Tatew.

Монотипный род *Popoviocodonia* эндемичен для РДВ: единственный вид его, горнотундровый и скальный *P. stenocarpa*, распространен на Сахалине, в южной Охотии и на Сихотэ-Алине. Выявленное у него диплоидное число хромосом $2n = 34$ характерно и для многих видов близкого рода *Campanula*.

Из «классического местонахождения» – на вулкане Стокап (о-в Итуруп) был впервые исследован скальный вид *Minuartia barkalovii* ($2n = 26$); он считается близкородственным с *M. arctica* ($2n = 22, 26, 38, 52$), последний вид не раз был исследован в Сибири (см. Агапова и др., 1990).

Lathyrus pilosus относится к небольшой родственной группе *L. palustris* aggr., необычной по встречающейся здесь полиплоидии (несвойственной роду *Lathyrus*, где безусловно преобладают виды-диплоиды). Для *L. pilosus* и *L. palustris* (последний не представлен на РДВ), кроме $2n = 14$, некоторые авторы приводили $2n = 42$, чаще – под названием «*L. palustris* var. *pilosus*», из разных областей его обширного ареала (из Финляндии, Словакии, Китая, Японии и Северной Америки). Цитотип *L. palustris* с $2n = 42$ был признан естественным аутогексаплоидом (Khawaja et al., 1995). Нами же было впервые выявлено новое – октоплоидное число хромосом для вида – $2n = 56$, на о-ве Шикотан. Отсюда, возможно, нуждается в пересмотре таксономический статус *L. miyabei* Matsum. (*L. pilosus* var. *miyabei* (Matsum.) Nara): последнее название было предложено для растений с Сахалина и южных Курильских островов, что далеко не всеми признавалось.

Для южнокурильско-японского скального вида *Oxytropis hidakamontana* на о-ве Шикотан было неожиданно установлено октоплоидное число $2n = 64$ (прежде для него было известно лишь диплоидное, $2n = 16$). Не исключаем, что растения с Шикотана представляют особый вид.

Новые данные (на этот раз – с о-ва Шикотан) для прибрежноморского вида с циркум-япономорским ареалом *Scrophularia grayana* ($2n = 20$) снова подтверждают наше предположение о том, что островная часть ареала вида (диплоидная!) является более древней, чем континентальная, где распространена тетраплоидная раса этого вида (с $2n = 40$).

Другой прибрежноморской скальный вид, *Draba kurilensis* (*D. borealis* auct., p. p.) на о-ве Шикотан (где выявлено $2n = 32$, как и ранее – на островах Монерон, Матуа и Шиашкотан), похоже, снова подтверждает свое «право» на ранг особого вида (он был описан с южных Курильских островов). Вид относится с северопацифическому комплексу *D. borealis* DC. agg., причем для *D. borealis* s. str. известны совершенно другие уровни плоидности: $2n = 64$ (8x) с Чукотки, $2n = 80$ (10x) – из Северной Америки. Мы считаем, что данные по числам хромосом дают основания считать Сахалин (где у *D. kurilensis* известно даже $2n = 16$), Монерон и южную половину Курильского архипелага более древней частью общего ареала *D. borealis* agg. Наблюдается увеличение плоидности в этом комплексе по мере продвижения к северу.

Впервые для нашей страны получены достоверные данные для южнокурильского скального вида *Leontopodium kurilense*, описанного с о-ва Шикотан ($2n = 26$), поскольку ранее имевшиеся в литературе ($2n = 48, 52$ – с Чукотки, Аннойского плато и бухты Нагаево в Магаданской обл.: см. Агапова и др., 1990), как установил В.Ю. Баркалов (1992), к этому виду не относятся.

Западнопацифический прибрежноморской скальный вид *Potentilla megalantha* ранее уже был нами исследован с Курил (острова Шумшу, Ушишир, Уруп), откуда было получено декаплоидное число хромосом $2n = 70$ (Probatova, Barkalov, Rudyka et al. 2000, 2006). Это совпадает и с данными из Японии (Shimotomai, 1930a, b). Ныне (на этот раз – с о-ва Кунашир) нами снова установлено у вида $2n = 70$. У близкородственного вида, северопацифического *P. fragiformis*, известны два цитотипа: $2n = 42$ и 56 (см. Агапова и др., 1993), более того, недавно для *P. fragiformis* с Шантарских островов было установлено $2n = 28$ (наши данные). По-видимому, следует признавать *P. megalantha* самостоятельным видом, с константным числом хромосом $2n = 70$.

Из новых данных 25 видов дополняют наш Аннотированный конспект, представленный в книге: это *Arctium tomentosum*, *Cardamine sachalinensis*, *Cardamine* sp., *Chenopodium glaucum*, *Draba ussuriensis*, *Elymus franchetii*, *Epilobium fastigiato-ramosum*, *Eupatorium glehnii*, *Galeopsis tetrahit*, *Galium trifidum*, *Hemerocallis yezoensis*, *Hypericum kamtschaticum*, *Kitagawia terebinthacea*, *Lathyrus pilosus*, *Leontopodium kurilense*, *Menziesia pentandra*, *Minuartia barkalovii*, *Oxytropis calcareorum*, *Persicaria extremorientalis*, *P. hydropiper*, *P. lapathifolia*, *Popoviocodonia stenocarpa*, *Potentilla dickinsii*, *P. matsumurae*, *Rumex crispus*. Таким образом, общий список исследованных на островах видов ныне составляет $536 + 25 = 561$ вид, при этом на Сахалине теперь известно $356 + 4 = 360$ видов растений с исследованными числами хромосом, и на Курилах – $257 + 33 = 290$ видов.

Первое сообщение с Дополнениями по числам хромосом растений с Сахалина и Курильских островов публикуется в Японии.

Работа выполнялась при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований: проекты №№ 04-04-49750, 07-04-00610.

Литература

- Агапова Н. Д., Архарова К. Б., Вахтина Л. И., Земскова Е. А., Тарвис Л. В. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: семейства *Asteraceae* – *Menyanthaceae*. Л.: Наука, 1990. 509 с.
- Агапова Н. Д., Архарова К. Б., Вахтина Л. И., Земскова Е. А., Тарвис Л. В. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: семейства *Moraceae* – *Zygophyllaceae*. СПб., Наука. 1993. 430 с.
- Баркалов В. Ю. Род Эдельвейс – *Leontopodium* R. Br. ex Cass. // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 6. СПб.: Наука, 1992. С. 175–183.
- Пробатова Н. С., Баркалов В. Ю., Рудыка Э. Г. Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, таксономические и фитогеографические комментарии. Владивосток: Дальнаука, 2007. 392 с.
- Пробатова Н.С., Соколовская А.П., Рудыка Э.Р. Числа хромосом некоторых видов сосудистых растений о-ва Кунашир, Курильские острова // Бот. журн. 1989. Т. 74. № 11. С. 1675–1678.
- Соколовская А.П. Географическое распространение полиплоидных видов растений. (Исследование флоры о. Сахалина) // Вестн. Ленингр. ун-та. Сер. биол. 1960а. Т. 21, вып. 4. С. 42–58.
- Khawaja H.I.T., Ellis J.R., Sybenga J. Cytogenetics of *Lathyrus palustris*, a natural autohexaploid // *Genome*. 1995. Vol. 38. P. 827–831.
- Probatova N.S., Barkalov V. Yu., Rudyka E.G. Chromosome numbers of selected vascular plant species from Sakhalin, Moneron and the Kurile Islands // *Biodiversity and Biogeography of the Kuril Islands and Sakhalin*. 2004. Vol. 1. P. 15–23. [Sapporo, Japan: The Hokkaido University Museum. Ed. H. Takahashi].

Probatova N. S., Barkalov V. Yu., Rudyka E. G., Pavlova N. S. Further chromosome studies on vascular plant species from Sakhalin, Moneron and Kurile Islands // Biodiversity and Biogeography of the Kuril Islands and Sakhalin / Ed. H. Takahashi and M. Ohara. Vol. 2. Hokkaido University Museum, Japan. 2006. P. 93–110.

Probatova N. S., Barkalov V. Yu., Rudyka E. G., Shatalova S. A. Chromosome study on vascular plants of the Kurile islands // Nat. Hist. Res. (Chiba, Japan). 2000. Special Issue 7. P. 21–38.

Shimotomai N. Über die Chromosomenzahlen und die Phylogenie bei der Gattung *Potentilla* // Bot. Mag. (Tokyo). 1930a. Vol. 44, N 525. P. 490–498.

Shimotomai N. Chromosomenzahlen und Phylogenie bei der Gattung *Potentilla* // J. Sci. Hiroshima Univ. 1930b. Ser. B, Div. 2. N 1. P. 1–11.

К РЕШЕНИЮ ВОПРОСОВ БИОСИСТЕМАТИКИ *LATHYRUS SATIVUS* L. (FABACEAE)

Бурляева М.О., Вишнякова М.А., Алпатьева Н.В., Чесноков Ю.В.

Санкт-Петербург, ГНУ ГНЦ РФ ВНИИР им. Н.И. Вавилова, РАСХН

Lathyrus sativus (чина посевная) – экономически значимая зернобобовая культура в коллекции ВИР представлена 713 образцами практически из всех районов обширного ареала вида (Средняя и Южная Европа, Северная и Восточная Африка, Средняя и Юго-западная Азия и Южная Америка). Выявление морфолого-географической, экологической и генетической дифференциации культурного вида всегда было неотъемлемой частью изучения генофонда. Знание эволюции, географии происхождения, расселения и истории введения в культуру, и на основе этого знания рациональное использование имеющегося в коллекции разнообразия – необходимое условие для селекционной работы.

Исследования мирового разнообразия вида по морфологическим, биологическим и биохимическим признакам выявили большой внутривидовой полиморфизм (Залкинд, 1937, 1953; Jackson, Yunus, 1984; Polignato et al., 2005 et al.; Sammour et al., 2007 и др.).

Из существующих внутривидовых классификаций *L. sativus* наиболее информативной нам представляется классификация Ф.Л. Залкинд (1937), созданная методом ботанико-географического изучения образцов коллекции ВИР. В этой классификации биологические признаки проанализированы в контексте экологической дифференциации вида. Основываясь на географической обособленности ареалов растений с темно- и светлоокрашенными семенами и цветками, автор разбила вид на два подвида: subsp. *asiaticus* и subsp. *europaeus*. Впоследствии эти подвиды были узаконены в соответствии с современными требованиями ботанической номенклатуры Смекаловой Т. Н. (1991) как subsp. *sativus* и subsp. *albus* Smekal.

В настоящее время в популяционной ботанике и систематике успешно применяют молекулярные методы, позволяющие более точно оценить генетическую вариабельность генома. При исследовании генетического разнообразия *L. sativus* с помощью различных молекулярных маркеров был выявлен значительный полиморфизм генома этого вида (Croft et al., 1999; Polignato et al., 2004; Costa et al., 2007 и др.).

Целью нашего исследования была оценка возможности использования RAPD – анализа для выявления внутривидового полиморфизма, диагностики внутривидовых таксонов чины посевной и для выяснения филогенетических взаимоотношений у образцов различного географического происхождения.

Исследовали 34 образца из коллекции ВИР, принадлежащих по классификации Залкинд (1937) к различным эколого-географическим группам: (*средиземноморской* – страны Средиземноморья, *среднеевропейской* – Средняя Европа и Европейская часть России, *кипрской* – о. Кипр и Крит, *анатолийской* – Малая Азия, Закавказье, горная Кабилия, *иранской* – Афганистан, Иран, Средняя Азия, *абиссинской* – Эфиопия, Египет, *индийской* – Индия). Изучение морфологических, морфометрических и биологических признаков данных образцов проводили на опытных станциях ВИР в Ленинградской и Тамбовской обл. в 2005, 2007 гг. Анализировали 10 растений каждого образца по 41 признаку. Молекулярно-генетический анализ этих образцов проводили посредством RAPD-маркирования (Edwards et al., 1991) с использованием 14 стандартных десятичленных праймеров, серии ОРА, ОРН, ОРК, ОРС (Operon Technologies, USA). Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программ STATISTICA 6.0 и TREECON.

Статистический анализ морфологических и биологических признаков выявил их четкую взаимосвязь с происхождением образца, что еще раз подтвердило закономерность эколого-географической дифференциации генофонда. По комплексу этих признаков образцы объединились в 4 группы (рис.1).

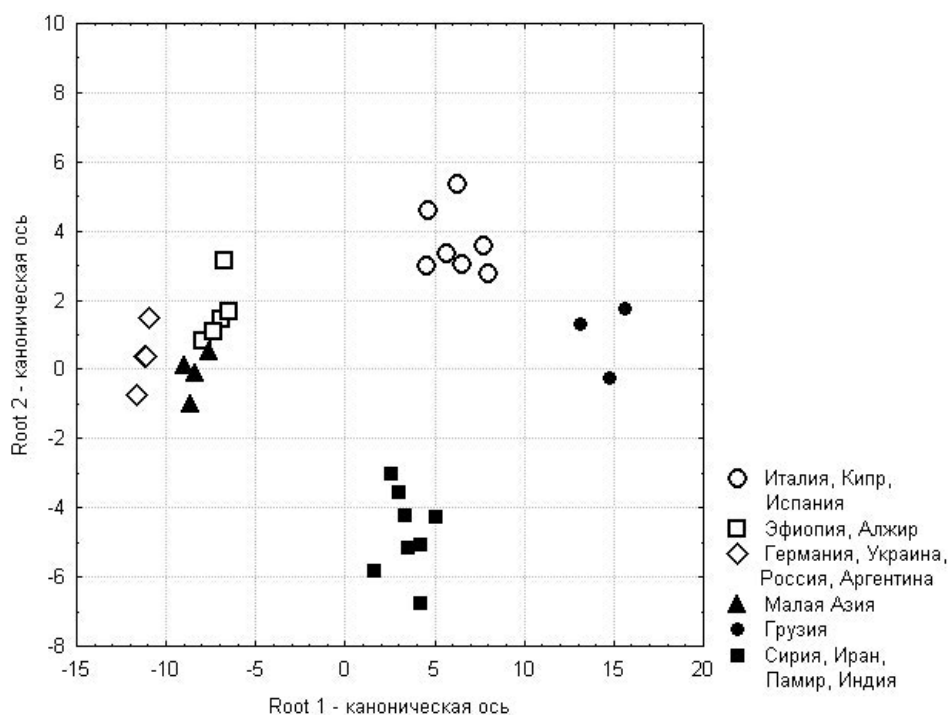


Рис.1. Распределение образцов *L. sativus* разного географического происхождения в пространстве двух канонических осей на основе морфометрических признаков.

Отчетливо дифференцированными оказались группы образцов из западного и среднего Средиземноморья (Испания, Италия, Кипр), образцы из Средней, Центральной, Юго-западной и Южной Азии, образцы из Грузии, и сравнительно гетерогенную по составу группу сформировали образцы из Северной Африки, средней и восточной Европы и Малой Азии с примкнувшим к ним селекционным сортом из Аргентины.

Значительное внутривидовое разнообразие генома чины посевной, установленное ранее другими авторами посредством RAPD и AFLP анализов, выявилось и в нашем исследовании. Большинство образцов имели свой определенный спектр амплифицированных RAPD фрагментов, отличающийся от других числом ампликонов, их размером и степенью выраженности (интенсивностью). Основная зона разделения ПЦР-компонентов находилась в пределах 150–2500 п.н. Девять праймеров выявили наличие 28 мономорфных фрагментов у всех исследуемых образцов. Один праймер выявил наличие фрагментов, характерных для группы образцов азиатского происхождения из Памира, Индии и Малой Азии (OPA-16-1300 п.н.).

На основе индивидуальных RAPD-спектров определен уровень внутривидового полиморфизма изученных образцов и построена дендрограмма (рис.2).

На дендрограмме обособленное положение заняли образцы из Индии, Памира и Малой Азии, имеющие целый ряд примитивных черт, характерных для азиатского подвида: карликовый рост, тонкие стебли, малую и среднюю ветвистость, растрескивающиеся бобы и мелкие темноокрашенные семена. Большинство исследуемых образцов объединились в большую группу, которая в свою очередь разделилась на две подгруппы. В одну из них вошли типичные средиземноморские чины из Италии и Кипра (средне-рослые, сильно ветвистые, с толстыми стеблями и крупными светлоокрашенными семенами), сорт из России, образцы из Алжира (высокорослые, со стеблями средней толщины и крупными темноокрашенными семенами), из Ирана (средне-рослые, тонкостебельные, со средними по величине темноокрашенными семенами) и из Испании (низкорослые, со стеблями средней толщины и крупными светлоокрашенными семенами).

Во вторую подгруппу вошли образцы из Алжира, Эфиопии и Грузии (высокорослые, тонкостебельные со средними по величине темноокрашенными семенами), Германии и Кипра (средне-рослые, толстостебельные со средними светлоокрашенными семенами). В этой же подгруппе оказались индийские образцы, морфологические признаки которых обнаруживают гибридогенную природу, в частности, наряду с низкорослостью, типичной для индийских форм, они имеют более толстые стебли, а их темноокрашенные семена значительно крупнее, чем у типично индийских образцов. В эту группу также вошли сорта из Украины и Аргентины (средне-рослые, со стеблями средней толщины и средними светлоокрашенными семенами). К сожалению, родословные изучаемых нами сортов не известны и интерпретировать их положение в полученной нами системе можно только на уровне предположений об их происхождении из тех или иных внутривидовых таксонов.

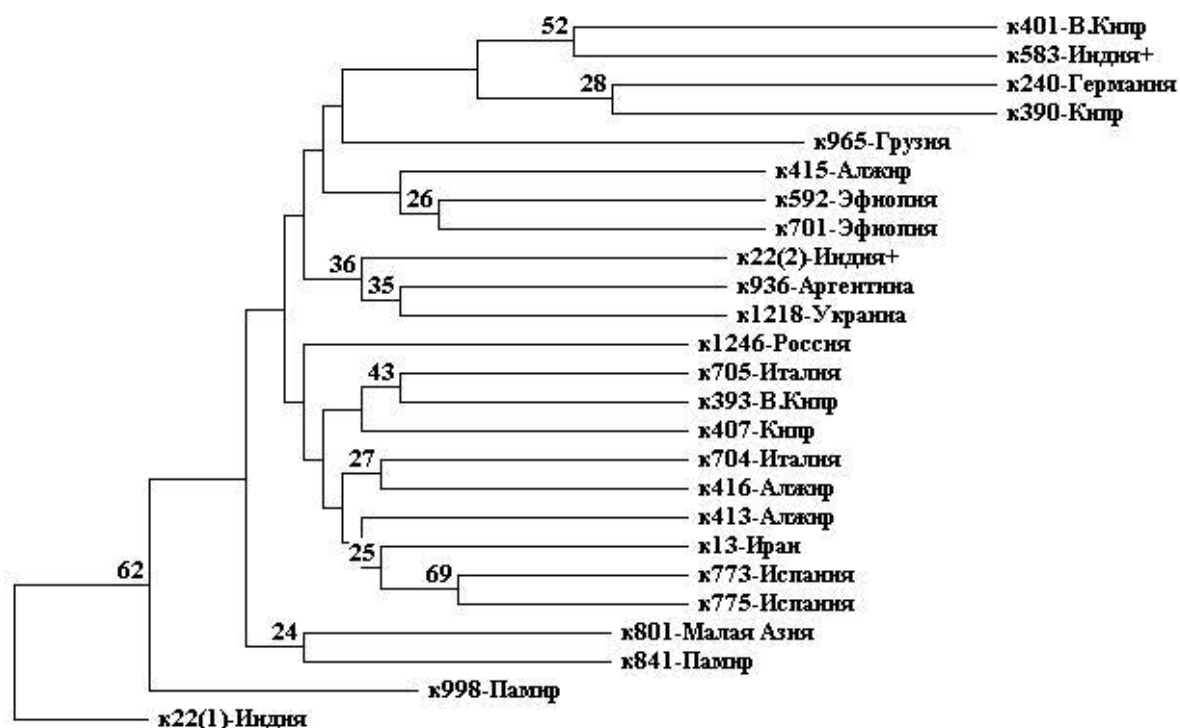


Рис.2. Дендрограмма, полученная на основе сравнительного анализа 185 полиморфных амплифицированных RAPD фрагментов 25 представителей *L. sativus*. («+»)-естественные гибриды указанных образцов с формами европейского подвида.

Сопоставление данных молекулярного анализа с морфологическими признаками образцов выявило факты наличия у ряда морфологически сходных образцов одинаковых электрофоретических спектров RAPD-ампликонов. Такие образцы объединялись в самых мелких ветвях дендрограммы. В то же время имелись сходные по фенотипу образцы с различающимися спектрами ампликонов. На дендрограмме такие образцы объединялись в ветви, как с незначительным, так и с высоким бутстреп коэффициентом.

Ветви самого высокого ранга отразили деление вида на подвиды.

Таким образом, в результате нашего исследования выявлен значительный внутривидовой полиморфизм генома у *L. sativus*, проявляющийся в наличии у большинства образцов определенного спектра амплифицированных RAPD фрагментов. Установлено, что, определение таксонов рангом ниже подвида и разработка внутривидовой классификации данного вида только по морфологическим признакам не может иметь решающего значения из-за естественной гибридизации и параллелизма в изменчивости признаков. Привлечение молекулярного анализа уточняет классификацию.

В выявленном нами генетическом полиморфизме изученных образцов достаточно четко прослеживается филогения генома вида. Эволюция чины посевной шла от индийских образцов, имеющих целый ряд генов дикого типа. Пока невозможно с достаточной степенью определенности установить, как шло расселение вида: сразу в нескольких направлениях в сторону Закавказья, Средиземноморья, и в Африку, или сначала только в Средиземноморские страны. Предполагаем только, что при его расселении в результате естественных скрещиваний между индийскими (или горными Эфиопскими) и средиземноморскими образцами возникли группы образцов Закавказья, Малой Азии, Северной Африки и Европы. Полученные данные согласуются с гипотезой Залкинд (1937) о том, что Северная Индия и прилегающие к ней районы являются первичным центром формообразования чины посевной, т. к. там до настоящего времени сохранились эндемичные наиболее примитивные ее формы. Средиземноморье – район вторичного формообразования чины. Чины из горных районов Испании и Эфиопии по морфологическим признакам сходны с азиатскими (индийскими), что говорит о родственной связи между ними и о том, что ранее ареал азиатских чин был более обширным и охватывал все древнее Средиземноморье.

Для более точного выяснения филогенетических связей и эволюции вида необходимы дальнейшие исследования с применением других методов молекулярного анализа.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 06-04-48869-а

Литература

- Залкинд Ф.Л. Чина. Культурная флора СССР. Т. 4. Л. 1937. С.171 – 227.
- Залкинд Ф.Л. Чина. М. – Л. 1953. 144 с.
- Смекалова Т.Н. Внутривидовые таксоны *Lathyrus sativus* L. // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. Л. 1991. С. 64–72.
- Costa R., Carita T., Pereira G., Tavares-de-Sousa M. Characterization of grass pea genotypes by RAPD markers. // Book of Abstracts. 6th European Conference on Grain Legumes. Lisbon, Portugal. 2007. P. 131.
- Croft A.M., Pang E.C.K., Taylor P.W.J. Molecular analysis of *Lathyrus sativus* L. (grasspea) and related *Lathyrus* species *Euphytica*, 1999. Vol.107. N 3. P. 167–176.
- Edwards S.K., Johnston C., Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analyses. // *Nucleic Acids Res.* 1991. Vol. 19. P. 1349.
- Jackson, M.T., Yunus, A.G. Variation in the grass pea (*Lathyrus sativus* L.) and wild species. *Euphytica*. 1984. Vol. 33. P. 549–559.
- Polignano G.B., Lotti C., Alba V. et al. Comparative analysis of RAPD and AFLP polymorphisms in a core collection of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). // Conference handbook. 5th European Conference on Grain Legumes. Dijon, France. 2004. P.180.
- Polignano G.B., Ugenti P., Alba E. et al. Morpho-agronomic diversity in grass pea (*Lathyrus sativus* L.) // *Plant Genet. Resour.* 2005. N 3. P. 29–34.
- Sammour, R., Mustafa, A-E., Badr, S., Tahr, W. Genetic variations in accessions of *Lathyrus sativus* L. // *Acta Bot. Croat.* 2007. Vol.66. N 1. P.1–13.

КАРИОТИПЫ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ

Волкова С. А., Горовой П. Г.

Владивосток, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

До недавнего времени систематика была главным образом морфологической дисциплиной и рассматривалась как чисто описательная наука, занятая простой каталогизацией фактов. Современная систематика представляет сложную синтетическую дисциплину, обобщающую при решении своих задач данные всех отраслей биологии и сопредельных отраслей знания (Тихомиров, 1979). Систематика приводит всю сумму ботанических знаний в упорядоченную систему и является, следовательно, не только фундаментом ботаники, но и венцом всей науки о растениях (Тахтаджян, 1965). Совершенствование классических и использование новых методов получения и обработки данных делают систематику разработанной научной дисциплиной. Систематики при исследовании привлекают данные различных дисциплин: анатомии, эмбриологии, цитологии, генетики, палинологии, биохимии. В каждом отдельном случае преобладающее значение получают данные той или иной из этих дисциплин. До настоящего времени среди систематиков нет единого мнения относительно систематического ранга многих групп растений и поэтому важно анализировать наибольшее число признаков при определении таксономического ранга.

Результаты цитологических исследований имеют большое значение для систематики и в настоящее время нельзя считать полноценной монографию, в которой не использованы данные по числу и морфологии хромосом (Тахтаджян, 1965). Кариосистематика вошла в научную литературу как определение исследований, в которых сравнительное изучение признаков строения ядра и хромосом ведется в целях использования их, наряду с другими признаками, в систематике разных таксонов (Агапова, Васильева, 1987). Хромосомные числа служат одним из критериев для определения таксономического положения растения и дают иногда весьма ценные систематические сведения. В справочнике «Хромосомные числа цветковых растений Сибири и Дальнего Востока» (Кругулевич, Ростовцева, 1984) содержатся в основном сведения о хромосомных числах видов флоры Сибири, для дальневосточных растений таких сведений меньше. Числа хромосом приводятся в сводках «Сосудистые растения советского Дальнего Востока» (1985–1996). По данным Н. С. Пробатовой с соавторами (2007) российский Дальний Восток находится на первом месте среди других регионов нашей страны по состоянию кариологической изученности флоры.

Однако изученность кариотипов представителей флоры Дальнего Востока незначительна. У дальневосточных растений кариотипы исследованы в семействах *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl., *Araliaceae* Juss., *Fabaceae* Lindl., *Hostaceae* Mathew (*Agavaceae*), *Poaceae* Barnhart, *Polygonaceae* Juss., *Ranunculaceae* Juss., *Saxifragaceae* Juss., *Trilliaceae* Lindl.

Сравнительный анализ исследованного кариотипа *Hosta rectifolia* Nakai (*Hostaceae*) показал сходство эволюционных преобразований хромосомных комплексов у видов этого рода (Гурзенков, 1993).

Впервые на дальневосточном материале изучены кариотипы семи видов рода *Vicia* L. (*Fabaceae*) (Гурзенков и др., 1995). Результаты исследований подтвердили значение кариологических данных для разрешения спорных вопросов таксономии видов и уточнения их положения в системе рода *Vicia*. Установлено, что наряду с кариотипической индивидуальностью каждого исследованного вида можно выделить группы видов внутри секций и подродов, имеющих сходные кариотипические черты.

Особый интерес для современной и исторической фитогеографии имеет цитотаксономическая характеристика рода *Bergenia* Moench (*Saxifragaceae*), так как он занимает изолированное положение в семействе, являясь реликтовым компонентом ряда флористических комплексов и растительных сообществ высокогорий. Сравнительно-кариологическая характеристика трех видов: восточно-сибирского бадана толстолистного (*B. crassifolia* (L.) Fritsch.), дальневосточного бадана тихоокеанского (*B. pacifica* Kom.) и гималайского бадана реснитчатого (*B. ciliate* (Hook. f. et Thoms.) Engl.) показала, что виды имеют сходные кариотипы и процесс видообразования в роде *Bergenia* происходил без видимых генотипических изменений (Гурзенков и др., 1996).

В семействе *Araliaceae* впервые описан кариотип *Panax ginseng* С. А. Mey. и уточнено соматическое число хромосом (Гурзенков, Коляда, 1996).

Изучена кариосистематика 15 дальневосточных видов рода *Anemone* s. l. (*Ranunculaceae*). По величине хромосом выделены три группы ветрениц: очень крупно-хромосомные, крупно-хромосомные и имеющие хромосомы средней величины. Исходные формы ветрениц имели, вероятно, не слишком крупные хромосомы, по-видимому, близкие по величине хромосомам второй группы; их эволюция могла идти в двух направлениях: в сторону выработки очень крупных хромосом и в сторону измельчания хромосом. Предполагается, что предковые популяции могли иметь сразу два основных числа – 7 и 8. В ходе дальнейшей эволюции в сторону измельчания хромосом отбор благоприятствовал преимущественно стабилизации числа $x = 8$, а в сторону укрупнения хромосом – числа $x = 7$ (Стародубцев, 1991). В этом же семействе на основании морфологических признаков и кариотипов установлены отличительные признаки родов *Miyakea* Miyabe et Tatewaki и *Pulsatilla* Mill., которые позволяют считать *Miyakea* самостоятельным родом (Уланова и др., 1987). Изучена кариология *Aconitum umbrosum* (Korsh.) Kom. (Волкова, 2007).

Числа и морфология хромосом исследованы у дальневосточных видов рода *Bupleurum* L. (*Apiaceae*) (Горовой и др., 1979; Gorovoy, Volkova, 1987; Волкова, 1992; Волкова, Горовой, 2002). Исследование *B. sibiricum* Vest позволило впервые установить число хромосом $2n = 64$ при $x = 8$ (Волкова, Горовой, 1992; Волкова, 1998), это дает основание предполагать гибридное происхождение вида.

Н. С. Пробатова с соавторами (2000) представила анализ данных по числам и морфологии хромосом рода *Milium* L. (*Poaceae*) с целью показать наиболее вероятные направления эволюции в этом и близких к нему родах.

Числовое и морфологическое разнообразие кариотипов, встречающееся у разных видов одного рода, в ряде случаев позволяет обнаруживать в ходе кариологического анализа полиплоидные образцы и иногда выяснять природу найденных полиплоидов (Абрамова, 1970). На примере полиплоидных видов рода *Polygonatum* Mill. (*Polygonaceae*) видно, что в тех случаях, когда доминирование у гибридов морфологических признаков одного из родителей затрудняет определение образца, кариологический метод позволяет установить как сам факт гибридности, так и те виды, которые участвовали в образовании гибрида (Абрамова, 1990).

Изучение кариотипа *Trillium rhombifolium* Kom. (*Trilliaceae*) из Южного Приморья позволило считать его самостоятельным гибридогенным видом, характеризующимся рядом цитологических и морфологических признаков (Гриф и др., 1977). Сахалинско-кунаширская популяция диплоидного вида *T. camschatcense* Ker-Gawl. по морфологическим признакам и по рисунку гетерохроматиновых сегментов метафазных хромосом может быть выделена в самостоятельный вид (Гриф и др., 1985).

В совместной работе российских и иностранных исследователей (Hoshi et al., 2003) приводятся кариотипы нескольких видов *Artemisia* L. (*Asteraceae*) и сравниваются числа хромосом, определенные разными авторами. У *Artemisia argyi* ($2n = 34, 36, 50$) и *A. japonica* ($2n = 18, 36, 37$) хромосомные числа варьируют.

Литература

- Абрамова Л. И. Кариологическая характеристика видов рода *Polygonatum* Mill. // Цитология. 1970. Т. 12. № 10. С. 1334—1338.
- Абрамова Л. И. Кариологическое изучение полиплоидных купен (*Polygonatum*, *Convallariaceae*) произрастающих на территории Советского Союза // Бот. журн. 1990. Т. 75. № 5. С. 652—658.
- Агапова Н. Д., Васильева М. Г. Кариосистематика // Итоги науки и техники. Ботаника. М., 1987. Т. 6. Вып. 1. С. 96—137.
- Волкова С. А. Кариология *Aconitum umbrosum* (*Ranunculaceae*) // Бот. журн. 2007. Т. 92. № 2. С. 271—275.
- Волкова С. А. Кариосистематика и карпология видов рода *Bupleurum* L. Дальнего Востока: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1998. 21 с.
- Волкова С. А. О кариотипе *Bupleurum atargense* (*Apiaceae*) // Бот. журн. 1992. Т. 77. № 8. С. 105—107.
- Волкова С. А., Горовой П. Г. Кариологическое изучение высокогорных видов рода *Bupleurum* (*Apiaceae*) // Бот. журн. 2002. Т. 87. № 5. С. 147—151.
- Волкова С. А., Горовой П. Г. Кариологическая характеристика видов рода *Bupleurum* L. Дальнего Востока // 3-е со-вещ. по кариологии растений: Тез. докл. СПб., 1992. С. 16.

- Горовой П. Г., Кетриц Л. И., Гриф В. Г. Таксономическое и кариологическое изучение *Bupleurum komarovianum* Lincz. и *B. scorzonerifolium* Willd. (*Ariaceae*) из Приморья // Бот. журн. 1979. Т. 64. № 1. С. 42—46.
- Гриф В. Г., Черепанов С. К., Валович Е. М., Беляева Н. Н. Биосистематика некоторых видов рода *Trillium* (*Trilliaceae*), произрастающих в СССР // Бот. журн. 1985. Т. 70. № 9. С. 1177—1186.
- Гриф В. Г., Кетриц Л. М., Черепанов С. К. Кариосистематическое изучение *Trillium rhombifolium* Kom. (*Liliaceae*) из Южного Приморья // Бот. журн. 1977. Т. 62. № 11. С. 1639—1647.
- Гурзенков Н. Н. Кариологическое изучение *Hosta rectifolia* Nakai (*Agavaceae*) // Биологические исследования на Горнотаежной станции. Уссурийск, 1993. Вып. 1. С. 57—62.
- Гурзенков Н. Н., Коляда А. С. Изучение кариотипа *Panax ginseng* C. A. Meyer (*Araliaceae*) // Биологические исследования на Горнотаежной станции. Уссурийск, 1996. Вып. 3. С. 101—106.
- Гурзенков Н. Н., Павлова Н. С., Смирнова М. В. Кариотипы семи видов рода *Vicia* L. с российского Дальнего Востока // Биологические исследования на Горнотаежной станции. Уссурийск, 1995. Вып. 2. С. 139—149.
- Гурзенков Н. Н., Фисенко С. М., Смирнова М. В. Кариотипы трех видов бадана – *Bergenia* Moench (*Saxifragaceae* Juss.) // Биологические исследования на Горнотаежной станции. Уссурийск, 1996. Вып. 3. С. 96—101.
- Крогулевич Р. Е., Ростовцева Т. С. Хромосомные числа цветковых растений Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск, 1984. 286 с.
- Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Громик С. Л. Кариосистематика рода *Milium* L. и близких родов злаков (*Poaceae*) // Комаровские чтения. Владивосток, 2000. 146 с.
- Пробатова Н. С., Баркалов В. Ю., Рудыка Э. Г. Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Владивосток, 2007. 391 с.
- Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Л., 1985—1996. Т. 1—8.
- Стародубцев В. Н. Ветреницы. Систематика и эволюция. Л., 1991. 197 с.
- Тахтаджян А. Л. Теоретическое и практическое значение систематики растений и пути ее развития // Журн. общ. биол. 1965. Т. 26. № 4. С. 385—396.
- Тихомиров В. Н. О методологии современной систематики // Хемосистематика и эволюционная биохимия высших растений. М., 1979. С. 87—88.
- Уланова К. П., Волкова С. А., Горовой П. Г. Род *Miyakea* (*Ranunculaceae*) во флоре Дальнего Востока // Бот. журн. 1987. Т. 72. № 1. С. 64—70.
- Gorovoy P. G., Volkova S. A. A morphological, geographical and kariological study of East Asian *Bupleurum longiradiatum* Turcz. and *B. sachalinense* Fr. Schmidt // Feddes Repert. 1987. Bd 43. H. 228. P. 36—173.
- Hoshi Y., Kondo K., Korobkov A. et al. Cytological study in the genus *Artemisia* L. (*Asteraceae*) from Russia // Chromosome Science. 2003. Vol. 7. P. 83—89.

РЕГИСТРАЦИЯ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ И МОДЕЛИРОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПРОЦЕССОВ СРЕДИ СИБИРСКИХ STN-ГЕНОМНЫХ ВИДОВ РОДА *ELYMUS* (TRITICEAE: POACEAE)

Герус Д.Е., Агафонов А.В.

Новосибирск, Центральный Сибирский ботанический сад СО РАН

В гербариях и живых коллекциях ботанических учреждений часто обнаруживаются природные образцы рода *Elymus* L., которые в той или иной мере отклоняются от типичных форм общепризнанных видов.

В первом приближении можно выделить три главных фактора, приводящих к «запредельным» проявлениям отклонений в морфологии таких образцов. Чаще всего причиной таких отклонений могут быть экстремальные условия произрастания, инициирующие увеличение или сдвиг ожидаемых пределов модификационной изменчивости. При выращивании в нормальных для вида условиях эти проявления обычно возвращаются к норме. Второй причиной может быть обнаружение непознанных ранее признаков, изначально присущих данному виду в рамках его естественной генетически детерминированной изменчивости. Природа внутривидовой наследственной изменчивости и ее динамика у каждого вида строго индивидуальна и требует своего анализа и объяснения на основе правил рекомбинации наследственности, присущих равновесному виду при смене поколений.

Одним из самых трудно регистрируемых процессов, сдвигающих норму как модификационной, так и исторически сложившейся наследственной изменчивости вида, является межвидовая интрогрессия. В ее результате преодолеваются изоляционные барьеры между видами, и видовой генофонд либо расширяется, интегрируя дополнительный источник наследственной изменчивости, либо появляется серия новых отличающихся генотипов с самостоятельной судьбой.

Некоторые из обнаруженных морфологически отклоняющихся форм (МОФ) являются самофертильными и составляют основу уникальных микропопуляций. Трудность для классификации таких МОФ заключается в том, что таковые еще не обладают численностью, достаточной для стабильного воспроизводства в поколениях. Кроме того, они не обрели свой минимально необходимый по разнообразию генофонд и не занимают

заметного ареала, необходимого для признания совокупности таких МОФ, как самостоятельного таксона. Однако наиболее сложным, на наш взгляд, является доказательство либо интрогрессивного происхождения МОФ, либо их принадлежности к одному из симпатрических видов, как результат микроэволюции «внутри себя».

Таксономическая генетика — одно из направлений биосистематики, предназначенное для исследования структуры и взаимоотношения таксонов видового и подвидового рангов и подтверждения их статуса генетическими методами с акцентом на диагностические признаки (Агафонов, 2004). По своей сути это является логическим приложением закона гомологичных рядов Н.И. Вавилова (1920; 1935) для целей биосистематики (Тахтаджян, 1970). Применение методов таксономической генетики на основе принципа рекомбинационных и интрогрессивных генпулов (РГП—ИГП) в систематике рода *Elymus* (Агафонов, 1997; 2003) позволяет устанавливать происхождение МОФ, проводить моделирование интрогрессивной гибридизации в эксперименте, а так же с известной вероятностью предсказывать образование новых МОФ в природных популяциях.

Для прогнозирования интрогрессивных процессов между видами *E. caninus* (L.) L. и *E. fibrosus* (Schrenk) Tzvel. были созданы искусственные межвидовые гибриды, контроль над процессами репродукции проводили методами морфологического и электрофоретического анализа потомков в поколениях F₂–F₅. Результаты показали, что изученные виды можно отнести к единому интрогрессивному генпулу — ИГП, при этом стабилизация семенной фертильности межвидовых гибридов, как правило, происходит в поколении F₃–F₅. Было подтверждено, что обязательным условием интрогрессии между этими видами должно быть возвратное или нормализующее скрещивание, одно или несколько. В природных условиях подобный механизм интрогрессии ведет к постоянному образованию новых генотипов, дающих материал для естественного отбора и современного видообразования (Герус, Агафонов, 2006а).

В наших коллекционных сборах из разных районов Сибири был обнаружен целый ряд МОФ *E. caninus*, некоторые из которых можно отнести к форме *E. caninus* var. *muticus* (Holmb.) Karlsson, весьма распространенной в Северной Европе. Ставилась задача оценить возможность происхождения формы *E. caninus* var. *muticus* путем интрогрессии между некоторыми близкими видами *Elymus*. Были проанализированы скандинавские и сибирские образцы *E. mutabilis* (Drob.) Tzvel., *E. caninus* s. str., *E. caninus* var. *muticus*, сибирские МОФ и некоторые половые гибриды в поколениях. На основе проведенных исследований показано, что *E. caninus* var. *muticus* имеет полифилетическое происхождение. В Скандинавии таксон, вероятнее всего, имеет происхождение от *E. caninus* и *E. mutabilis*. Сибирские МОФ *E. caninus*, некоторые из которых могут быть причислены к разновидности *muticus*, вероятнее всего, также происходят от *E. caninus* и *E. mutabilis*, но при этом не исключена возможность происхождения других неидентифицированных природных образцов и популяций путем взаимной генетической интрогрессии между *E. caninus* и *E. fibrosus*.

Анализ искусственных половых гибридов между *E. caninus* и *E. mutabilis* в поколениях F₁ – F₄ показал, что репродуктивная стабилизация у части потомков пошла по интрогрессивному пути. Это подтверждалось наличием у некоторых гибридных выборок дополнительных полипептидов, отсутствующих у родительских форм. Другая же часть растений пошла по пути рекомбинации генетического материала родительских биотипов, при этом стабилизация семенной фертильности (до 72%) наступила уже к поколению F₂. Таким образом, между названными видами может проходить ограниченная рекомбинация генетического материала, но более вероятным путем стабилизации фертильности гибридных растений в природе представляется интрогрессивная гибридизация (Герус, Агафонов, 2006б).

В Сибири виды *E. transbaicalensis* (Nevski) Tzvel., *E. komarovii* (Nevski) Tzvel., *E. sajanensis* (Nevski) Tzvel. и *E. kronokensis* (Kom.) Tzvel. часто произрастают в близких или общих экотопах. Согласно описаниям, эти виды отличаются длиной остей нижних цветковых чешуй (НЦЧ), формой колосковых чешуй (КЧ), соотношением длин КЧ и НЦЧ ($k=L_{КЧ}/L_{НЦЧ}$). Существенным отличием *E. kronokensis* являются голые и гладкие НЦЧ.

Одной из поставленных задач было выявление полиморфизма и специфичности полипептидных спектров белков эндосперма и субфракционного состава гистона H1 среди выборочных природных биотипов *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis* и оценить возможность протекания интрогрессии между видами. В исследование также были включены образцы *E. komarovii* и *E. sajanensis*, собранные нами в классических местах произрастания. На основе данных о полиморфизме полипептидных спектров белков эндосперма и гистона H1 внутри популяций и среди выборочных образцов из Горного Алтая и Восточного Саяна можно сделать вывод, что в изученных популяциях проходят интрогрессивные или рекомбинационные процессы. В результате появляются не только морфологически отклоняющиеся и промежуточные формы, но и «скрытые рекомбинанты», генотипы которых содержат наследственный материал других видов, не контролирующийся морфологические признаки.

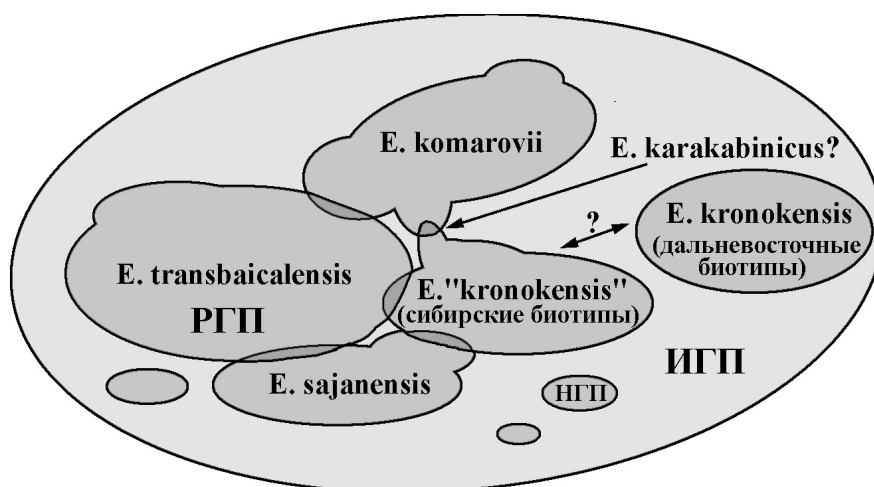
Для выяснения возможности протекания интрогрессивных процессов между видами *E. transbaicalensis*

х *E. komarovii* была проанализирована комбинация скрещивания между *E. transbaicalensis* х *E. komarovii* с участием горно-алтайских родительских биотипов. На основе морфологического и электрофоретического анализа был сделан вывод, что у данного межвидового гибрида проходила ограниченная рекомбинация генетического материала, а не интрогрессия с обязательным возвратным или нормализующим скрещиванием (Герус, Агафонов, 2007).

На основе полученных результатов построена уточненная модель генпулов названных видов, отражающая потенциальные отношения скрещиваемости и, следовательно, степени гомологичности геномов. Понятие об интрогрессивной гибридизации, предложенное E. Anderson и L. Hubricht (1938), используется уже много десятилетий. Однако, исходя из принципа РГП—ИГП, если биотипы двух таксономических видов принадлежат к одному генпулу со свободной рекомбинацией, т.е. репродуктивно совместимы на α1-уровне, то их гибридизацию следует рассматривать как обычное половое размножение с участием двух близкородственных форм, причем дочерние особи будут также иметь нормальный мейоз и фертильность. В то же время, если один агрегатный вид состоит из нескольких РГП, разделенных репродуктивными барьерами, то интрогрессией будет являться процесс гибридизации между особями из разных РГП с последующими возвратными скрещиваниями.

На фрагменте модели генпулов (рис.) показаны взаимоотношения скрещиваемости между РГП, образующими некоторые виды *Elymus* Азиатской части России.

По предварительным данным, дальневосточные биотипы *E. kronokensis* образуют отдельный РГП. В некоторых случаях между исследованными видами наблюдалось большее генетическое сходство при их совместном произрастании, чем между географически изолированными локальными популяциями одного вида. Вероятнее всего, локальные восточно-казахстанские популяции, описанные как *E. karakabinicus* Kotuch., живой материал которого мы, к сожалению, не имеем, образовались в результате гибридизации местных форм *E. komarovii* или *E. transbaicalensis* и форм, морфологически близких *E. kronokensis* по признаку гладких НЦЧ. Косвенным свидетельством, подтверждающим это предположение, было получение нами ранее аналогичных морфотипов в результате гибридизации остистой алтайской формы *E. transbaicalensis* и скандинавского биотипа *Elymus alaskanus* subsp. *scandicus* (Nevski) Meld. (= *Elymus kronokensis* subsp. *scandicus* (Nevski) Tzvel.) (Агафонов, 1997).



Фрагмент уточненной модели генпулов StH-геномных видов *Elymus*.

РГП — рекомбинационный генпул; ИГП — интрогрессивный генпул; НГП — неидентифицированные генпулы.

Показанные на рис. 1 неидентифицированные генпулы (НГП) представляют собой таксономически неопределенные природные популяции, несущие специфические комбинации морфологических признаков. Ряд таких популяций рода *Elymus* был обнаружен и собран нами в разных районах Азиатской части России и в настоящее время проходит биосистематическую проработку.

Литература

- Агафонов А.В. Принцип Рекомбинационных (РГП) и Интрогрессивных (ИГП) Генпулов в биосистематике рода Пырейник (*Elymus* L.) Северной Евразии // Сиб. экол. журн. 1997. Т. IV. № 1. С. 81–89.
 Агафонов А.В. Модель генпулов SH-геномных видов рода *Elymus* L. (*Triticeae*: *Poaceae*) Северной Евразии // Мат-лы XI съезда РБО. Барнаул: Изд-во АзБука. 2003. Т. 1. С. 231–233.
 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.

Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Саратов: Губполитграфотдел. 1920. 16 с.

Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М.–Л.: Сельхозгиз. 1935. 56 с.

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

Герус Д.Е., Агафонов А.В. Биосистематический анализ происхождения некоторых таксонов и морфологически отклоняющихся форм, близких к *Elymus caninus* и *E. mutabilis* // Сиб. ботан. вестник: электронный журнал <journal.csbg.ru>. 2006б. Т. 1. Вып. 1. С. 67–76.

Герус Д.Е., Агафонов А.В. Свидетельства межвидовой интрогрессии в смешанных популяциях *Elymus komarovii*, *E. transbaicalensis* (Triticeae: Poaceae) и некоторых морфологических близких видов Горного Алтая // Сиб. ботан. вестник: электронный журнал <journal.csbg.ru>. 2007. Т. 2. Вып. 1. С. 17–25.

Тактаджян А.Л. Биосистематика: прошлое, настоящее и будущее // Бот. журн. 1970. Т. 55, № 3. С. 331–345.

Anderson E., Hubricht L. Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization // Amer. J. Bot. 1938. V. 25. P. 396–402.

К ИЗУЧЕНИЮ ЧИСЕЛ ХРОМОСОМ У ЛАПЧАТОК (*POTENTILLA, ROSACEAE*) И МЯТЛИКОВ (*POA, POACEAE*) В БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Гнутиков А.А.¹, Моторыкина Т.Н.², Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г.³

¹Иркутск, АНО «Байкальский исследовательский центр», Иркутский госуниверситет

²Хабаровск, Институт водных и экологических проблем ДВО РАН

³Владивосток, Биолого-почвенный институт ДВО РАН

На восточной окраине Азиатского материка роды *Potentilla* L. и *Poa* L. представлены богато и разнообразно: для флоры российского Дальнего Востока (РДВ) указывается 66 видов лапчатки (Якубов, 1996) и 72 вида мятлика (Пробатова, 2007).

Potentilla и *Poa* – примеры очень сложных родов соответствующих семейств, если принять во внимание трудности разграничения многих таксонов, недостаточную изученность таксономической ценности многих признаков, полиморфизм у многих видов. Изучению чисел хромосом и ценности их для систематики у лапчаток Северо-Востока Азии была посвящена специальная работа П. Г. Жуковой и В. В. Петровского (1985); мятлики РДВ изучались нами в кариосистематическом отношении с конца 1960-х гг. (см. Агапова и др., 1993; Пробатова, 2007).

Несмотря на очень далекое положение друг от друга в системе цветковых растений, роды *Potentilla* L. и *Poa* L. (оба рода были описаны Линнеем), как ни удивительно, – во многих аспектах сходны, и в частности, в том, что касается кариотаксономической ситуации и эволюционных отношений видов в этих родах. Оба рода – крупные (около 500 видов) и широко распространены на Земном шаре, особенно – в северном полушарии, в умеренных и субтропических областях; оба рода – несомненно, прогрессирующие, представлены большим разнообразием видов, т.е. обнаруживают широкую таксономическую и эколого-географическую дифференциацию; оба рода богато представлены и в Байкальской Сибири (БС), и на российском Дальнем Востоке (РДВ).

Системы этих родов постоянно совершенствуются, причем время от времени часть видов выделяются в самостоятельные роды (например, *Sibbaldianthe* и *Dasiphora* – из *Potentilla*; *Arctopoa* и *Ochlopoa* – из *Poa*).

Оба рода эволюционировали при одном основном, или базовом, числе хромосом $x = 7$, которое, к тому же, многими авторами считается первичным (анцестральным); в обоих родах широко представлены виды – полиплоиды, гибридогенные виды и спонтанные гибриды, что неоспоримо свидетельствует о важной роли гибридационных процессов в эволюции этих родов.

В каждом из родов встречаются виды полиморфные, причем нередко наблюдается внутривидовой кариологический полиморфизм (два или более уровней пloidности, встречаются и анеуплоидные расы); в обоих родах имеет место апомиксис. В каждом из родов имеются виды – первичные диплоиды ($2n = 14$), при этом диплоидное число константно, других чисел хромосом, кроме диплоидного, внутри вида не наблюдается (*Poa*) или же такие случаи редки и нуждаются в уточнении (у *Potentilla*).

В обоих родах имеются виды – антропофиты, отражающие различные стадии деградации естественных растительных сообществ и ландшафтов, и виды слабо антропотолерантные, выпадающие при подобных воздействиях.

Изучение таксономического разнообразия, экологии и распространения лапчаток в Приморском крае и Приамурье проводит Т. Н. Моторыкина (Толмачева), числа хромосом лапчаток и мятликов Байкальской Сибири и Дальневосточного региона (преимущественно его южной половины) определяли Э. Г. Рудыка, А. А. Гнутиков и А. В. Шатохина, в ходе кариологического изучения флоры БС и РДВ. Ниже представляем краткий отчет о полученных данных и их предварительный анализ. При этом нами были использованы литературные источники (Агапова и др., 1993; Пробатова, 2007; Пробатова, Баркалов, Рудыка, 2007).

Наши и литературные данные по числам хромосом у лапчаток позволяют выделить следующие группы видов (звездочка при числе указывает на полученные нами данные).

Примеры видов лапчатки БС и (или) РДВ, сформировавшихся:

а) на диплоидном уровне, $2x$ ($2n = 14^*$): *Potentilla fragarioides*, южносибирско-дальневосточный опушечно-лесной вид; *P. stolonifera*, западнопацифический прибрежноморской (супралиторальный) вид; *P. centigrana*, амуро-японский лесной вид; *P. chinensis*, амуро-корейский лугово-степной и скальный вид; *P. cryptotaeniae*, амуро-японский лесной вид, слабый антропофит; *P. flagellaris*, южносибирско-амурский лугово-степной вид, слабый антропофит; *P. freyniana*, амуро-японский луговой вид; *P. longifolia*, преимущественно южносибирско-центральноазиатский (заходящий на Верхний Амур) лугово-степной и скально-осыпной вид; *P. rugulosa*, приморско-корейский скальный вид (встречается преимущественно вдоль морского побережья); *P. vulcanicola*, эндем Камчатки, скальный вид; *P. rupifraga*, охотский эндем, прибрежноморской скальный вид; *P. amurensis*, эндем бассейна Амура, отшельный вид;

б) на тетраплоидном уровне, $4x$ ($2n = 28^*$): *P. anserina*, космополитный отшельно-луговой и полусорный вид, антропофит; *P. pacifica*, североамериканский прибрежноморской (лугово-болотный) вид, галофит; *P. tergemina*, сибирско-дальневосточный лугово-степной вид, слабый антропофит;

в) на гексаплоидном уровне, $6x$ ($2n = 42^*$): *P. canescens*, евроазиатско-средиземноморский вид, на РДВ – заносный (вид слабоизученный, так что это число хромосом, возможно, у него – не единственное);

г) на декаплоидном уровне, $10x$ ($2n = 70^*$): *P. megalantha*, западноамериканский прибрежноморской (скальный) вид, галофит, встречается на Курильских островах.

Примеры видов, имеющих по два или несколько цитотипов, с разными уровнями пloidности, при этом, диплоидного ($2x$) – не выявлено:

Potentilla miyabei ($2n = 28^*$, 56), южнокурильско-японский высокогорный скально-осыпной вид;

P. bifurca ($2n = 28^*$, 56), восточноевропейско-южносибирско-центральноазиатский лугово-степной вид, антропофит, на РДВ – заносный;

P. semiglabra ($2n = 28^*$, 56*), преимущественно восточносибирско-амурский лугово-степной (отчасти отшельный) вид, антропофит, заносный в некоторых субрегионах РДВ;

P. supina ($2n = 28^*$, 42*), голарктический отшельно-луговой и полусорный вид, очень полиморфный;

P. intermedia ($2n = 28^*$, 35, 42*, 56), евроазиатский вид, заносный на РДВ;

P. fragiformis ($2n = 28^*$, 42, 56), североамериканский прибрежноморской вид, галофит, слабый антропофит, полиморфный вид.

P. norvegica ($2n = 42$, 56*, с.63, с.70, 70), почти космополитный отшельный и полусорный вид, очень полиморфный; на РДВ (как и во многих других регионах и странах) он, возможно, заносный;

P. arenosa ($2n = 28^*$, 42, 49, 56, 70), восточноевропейско-южносибирско-дальневосточный опушечно-лесной и скально-отшельный вид, очень полиморфный.

Примеры видов, имеющих два или несколько цитотипов – диплоидный и полиплоидные:

Potentilla discolor ($2n = 14^*$, 28*), амуро-корейский лугово-степной вид;

P. nudicaulis ($2n = 14$, 28*), евроазиатско-дальневосточный лугово-степной (отчасти скально-осыпной) вид, антропофит;

P. multifida ($2n = 14$, 28*, с. 30, 42), евроазиатско-центральноазиатский лугово-степной вид, антропофит; на РДВ – заносный;

P. nivea ($2n = 14$, 16, 28*, 42*, 49, 54–56, 56*, 63, с.70, 70), голарктический горнотундровый и скально-осыпной вид, чрезвычайно полиморфный;

P. argentea ($2n = 14$, 28*, 35, 42*, 56), евроазиатский опушечно-луговой вид, антропофит, чрезвычайно полиморфный вид; на РДВ – заносный.

Примечательна большая группа диплоидных видов лапчатки, а также тот факт, что среди полиморфных видов с переменной пloidностью много антропофитов.

Среди диплоидов выделяется древняя группа диплоидных видов лапчатки, которая сформировалась, скорее всего, близ побережий Северной Пацифики; тогда, к примеру, приокеаническую часть обширного ареала *P. fragarioides* следует считать более древней, в сравнении с континентальной (и, тем более, – с сибирской). На морских побережьях Приморского края, Сахалина и Курильских островов *P. fragarioides* s. str. отличается выраженным полиморфизмом, встречаются приморские экотипы (Пробатова, Рудыка, Баркалов и др., 2006), что вполне согласуется с представлениями о морских побережьях РДВ как о зоне формо- и видообразования (Пробатова, Селедец, 1999). *Potentilla cryptotaeniae* ($2n = 14$) – один из древних восточноазиатских видов, высоко специализированный, он хорошо адаптирован к зоне муссонного климата: с наступлением влажного периода во второй половине лета его цветущие побеги прибиваются к земле, полегают, и в узлах стебля образуются розетки, которые потом укореняются, давая начало новым растениям.

По поводу *Potentilla discolor* можно предположить, что в бассейне оз. Ханка находится более древняя – диплоидная ($2n = 14$) часть ареала вида, и что тетраплоидная раса ($2n = 28$), выявленная нами на Верхнем Амуре, возможно, приурочена к нарушенным местообитаниям.

Род мятлик (*Poa* L.) занимает первое место по количеству видов в агрофлоре и Сибири (52 вида), и РДВ (72 вида), далеко превосходя все остальные роды злаков в этих регионах. Мятлики обнаруживают широкую эколого-фитоценологическую амплитуду: от типично лесных видов до степных и высокогорных (горнотундровых и видов нивального комплекса). Как в Сибири, так и на РДВ наибольшее число видов мятлика относятся к секциям *Poa* и *Stenopoa*. Для РДВ весьма характерны виды группы *Malacanthae* (секция *Poa*), тяготеющие к приокеаническим районам; в Сибири же, напротив, получили развитие аридные виды секции *Stenopoa*. В целом, секционный состав мятликов на РДВ более разнообразен.

Исследованные нами в последнее время виды мятлика (*Poa*) относятся главным образом к двум крупнейшим группам рода – секциям *Poa* и *Stenopoa*, которые, несомненно, являются прогрессирующими. В последнее время нами (Пробатова, 2007; Пробатова и др., 2006) было обосновано выделение в качестве особой секции (нотосекции) *Poastena* группы гибридогенных таксонов, сформировавшихся при участии представителей этих двух секций в приокеанических районах Северо-Западной Пацифики, и в частности, в районах активного вулканизма. Виды-диплоиды (вообще – редкие у мятликов) в этих секциях полностью отсутствуют.

В секции *Stenopoa* для видов характерна переменная плоидность, обычно два – три цитотипа (внутри-видовых кариологических расы), примеры: *Poa stepposa* ($2n = 28^*$, 42^*), восточноевропейско-сибирско-дальневосточный опушечно-лесной и скально-осыпной вид; *P. urssulensis* ($2n = 28^*$, 42^*), центральноазиатско-сибирско-дальневосточный опушечно-лесной и скально-отмельный вид; *P. botryoides* ($2n = 28^*$, 35 , 42^*), центральноазиатско-сибирско-дальневосточный скально-степной вид; *P. skvortzovii* ($2n = 28^*$, 35^* , 42^*), амурокорейский опушечно-лесной и скальный вид; *P. pseudoattenuata* ($2n = 28^*$, 42^* , 56^*), амуро-сахалинский скально-осыпной вид; *P. sichotensis* ($2n = 42^*$, 49^* , $49-50^*$, 56^* , 70^*), сихотэалинский эндемичный низкогорно-лесной вид, и т. д. На этом фоне весьма необычной для секции *Stenopoa* представляется выявленная нами константность числа хромосом у *Poa vorobievii* ($2n = 28^*$), это прибрежноморской (скально-приморский) вид, с западно-япономорским ареалом. У некоторых других видов этой секции (например, *Poa palustris*) на РДВ и в БС также выявляется лишь тетраплоидное число хромосом $2n = 28$, однако оно не является константным, судя по обширной литературе.

В секции *Poa* для видов также характерна переменная плоидность – весьма разнообразные (но- только полиплоидные!) числа хромосом, однако они, как правило, значительно выше (тетраплоидные цитотипы для видов этой секции не характерны), примеры: *Poa raduliformis* ($2n = 42^*$, $70-72^*$), восточносибирско-дальневосточный опушечно-лесной вид; *P. sergievskajae* ($2n = 42^*$, 56^*), восточносибирско-дальневосточный опушечно-лесной и отмельный вид; *P. angustifolia* ($2n = 56^*$, $63-64$, $70-72$), евразийский лугово-степной и отмельный вид; *P. turneri* ($2n = 42^*$, 63 , $с.64^*$), северопацифический прибрежноморской (луговой) вид; и т.д. Наше первое определение числа хромосом у *Poa pruinosa* с побережья Байкала показало $2n = 42^*$, и все же, мы предполагаем возможность существования у вида и других цитотипов. Однако, как и в секции *Stenopoa*, в секции *Poa* нам известен один вид – *P. tatewakiana*, для которого до сих пор многократные определения показали единственное число хромосом $2n = 42$, западнопацифический прибрежноморской (скально-осыпной) вид.

В других секциях рода мятлик у видов известны константные числа хромосом (например, $2n = 14$ – у *Poa sibirica*, у *P. pseudoabbreviata*, или $2n = 28$ у *P. ussuriensis*), но существование одновременно ди- и полиплоидных цитотипов у одного и того же вида исключено. В случаях обнаружения подобного явления здесь необходимы таксономические решения.

Работа выполнялась при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований: проекты №№ 04-04-49750, 07-04-00610.

Литература

Агапова Н.Д., Архарова К.Б., Вахтина Л.И. и др. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: семейства *Moraceae* – *Zygophyllaceae*. СПб. 1993. 430 с.

Жукова П.Г., Петровский В.В. Цитотаксономические исследования некоторых видов рода *Potentilla* (*Rosaceae*) из Северной Азии // Бот. журн. 1985. Т. 70. № 8. С. 1070–1077.

Пробатова Н. С. Хромосомные числа в семействе *Poaceae* и их значение для систематики, филогении и фитогеографии (на примере злаков Дальнего Востока России) // Комаровские чтения. Вып. 55. Владивосток: Дальнаука, 2007. С. 9 – 103.

Пробатова Н. С., Баркалов В. Ю., Рудыка Э. Г. Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, таксономические и фитогеографические комментарии. Владивосток: Дальнаука, 2007. 392 с.

Пробатова Н.С., Кожевников А.Е., Баркалов В.Ю. и др. Флора российского Дальнего Востока. Дополнения и изменения к изданию «Сосудистые растения советского Дальнего Востока», тт. 1–8 (1985–1996). Отв. ред. А.Е. Кожевников и Н.С. Пробатова. Владивосток: Дальнаука, 2006. 456 с.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Баркалов В. Ю., Нестерова И. А., Кудрин С. Г., Чубарь Е. А. Числа хромосом сосудистых растений из заповедников Приморского края и Приамурья // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 7. С. 1117–1134.

Пробатова Н.С., Селедец В.П. Сосудистые растения в контактной зоне «континент-океан» // Вестник ДВО РАН. 1999. № 3. С. 80–92.

Якубов В.В. Род Лапчатка – *Potentilla L.* // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 8. СПб.: Наука, 1996. С. 168–206.

СИСТЕМАТИКА *ELAEOSTICTA (UMBELLIFERAE)* И БЛИЗКИХ РОДОВ В СВЕТЕ НОВЫХ ДАННЫХ ПО НУКЛЕОТИДНЫМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМ СПЕЙСЕРОВ ITS ЯД-РДНК И *PSbA-TRnH* ХПДНК

Дегтярева Г.В., Ключиков Е.В., Вальехо-Роман К.М., Самигуллин Т.Х., Пименов М.Г.

Москва, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Основные трудности в систематике зонтичных связаны с проблемой установления границ и объемов родов. Значительное сходство внешней морфологии представителей разных родов приводит к нестабильности систематики семейства на уровне рода. Ключевым моментом при разработке системы семейства продолжает оставаться анализ небольших естественных групп в сопоставлении с близкими к ним таксонами. Важные результаты в этом отношении получены при ревизии группы геофильных зонтичных Средней Азии. Центральное место в этой группе занимает род *Elaeosticta* Fenzl, в настоящее время насчитывающий 26 видов. Ареал рода вытянут в широтном направлении от Средиземного моря на западе до Тянь-Шаня, Памиро-Алая и западных Гималаев на востоке. Многие виды рода *Elaeosticta* раньше относили к *Scaligeria* DC. В результате тщательного изучения карпологических и других морфологических признаков большинство видов *Scaligeria* оказалось возможным отнести к отдельному роду *Elaeosticta* (Ключиков и др., 1976). Затем к *Elaeosticta* были отнесены два вида рода *Muretia* Boiss. (Ключиков и др., 1978), один вид рода *Hyalolaena* Bunge (Пименов, Ключиков, 1982) и описаны два новых вида (Пименов, Ключиков, 1979; Ключиков, 2005). С использованием методов многомерной статистики на основе изучения широкого комплекса признаков была разработана новая система рода *Elaeosticta* (Пименов и др., 1981), в которой выделены 3 секции и 7 подсекций. С развитием молекулярно-биологических методов появилась возможность дополнить наши представления о границах рода *Elaeosticta* и его взаимоотношениях с другими геофильными зонтичными Средней Азии. С этой целью был проведен анализ нуклеотидных последовательностей ITS1,2 ядерной рибосомной ДНК и спейсерного участка *psbA-trnH* хлоропластной ДНК. Результаты изучения фрагментов ядерной ДНК свидетельствуют в пользу монофилии рода *Elaeosticta*, подтверждая тем самым таксономическую значимость признаков, использованных при выделении этого рода, а именно довольно редкий в семействе зонтичных экзокарп, состоящий из очень крупных тонкостенных клеток, отсутствие зубцов чашечки и наличие листочков оберток и оберточек. Таким образом, наши данные уверенно подтверждают разделение родов *Elaeosticta* и *Scaligeria*. Интересно, что вид *Elaeosticta tschimganica*, для которого характерен зародыш с одной семядолей, не группируется с *Scaligeria napiformis*, также имеющей односемядольный зародыш. Однако группировки, выявляемые на филогенетическом дереве, достаточно слабо согласуются с разделением видов на секции и подсекции. Часть клад филогенетического дерева в целом соответствуют близости видов, выявляемой по морфологии (*E. alaiica*–*E. buharica*; *E. hirtula*–*E. transcaspica*–*E. tschimganica*; *E. elata*–*E. nodosa*–*E. ramosissima*–*E. korovinii*; *E. conica*–*E. samarkandica*). В других случаях наблюдается противоречие (*E. lutea* и *E. transitoria*; *E. polycarpae* и *E. buharica*; *E. ferganensis* и *E. knorringiana*). Нередко выявленные группировки оказываются больше связанными с географическим распространением видов, чем с морфологическими особенностями.

Спейсер *psbA-trnH* хпДНК в изучаемой группе геофильных зонтичных по сравнению с другими таксонами Umbelliferae (Дегтярева, 2007) имеет рекордно короткую длину (113–120 нуклеотидов), предположительно обусловленную крупными делециями на 3'-конце. Этот факт подтверждает близкое родство рода *Elaeosticta* с такими таксонами, как *Bunium*, *Galagania*, *Hyalolaena*, *Mogoltavia* и *Oedibasis*, выявленное нами по результатам анализа последовательностей ITS яд-рДНК. Однако последовательности *psbA-trnH* оказались достаточно консервативными для выявления взаимоотношений между этими таксонами. Помимо этого, многие замены, обнаруживаемые в спейсере *psbA-trnH*, предположительно носят гомопластичный характер. Прежде всего, это небольшие инверсии между короткими обращенными повторами, часто наблюдаемые в некодирующих участках хлоропластного генома в целом и сходные у неродственных таксонов (Kelchner, Wendel, 1996; Kim, Lee, 2005; Logacheva, 2008). Также были обнаружены сходные точечные замены у некоторых видов *Elaeosticta* и *Bunium*, видимо, способствующие стабилизации вторичной структуры спейсера. Интересно отметить, что точечные замены, в меньшей степени влияющие на стабильность вторичной структуры, маркируют некоторые группировки в пределах *Elaeosticta*, выявленные по результатам анализа последовательностей ITS яд-рДНК.

Таким образом, анализ нуклеотидных последовательностей изученных участков подтверждает правильность разделения родов *Scaligeria* и *Elaeosticta* и родство последнего с *Bunium*, *Galagania*, *Hyalolaena*, *Oedibasis* и *Mogoltavia*. Обнаруженные особенности хлоропластного спейсера у изученной группы указывают на необходимость анализа микроструктурных изменений (вставки/выпадения нуклеотидов, инверсии) и вторичной структуры для выявления гомопластичных событий.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 06-04-48484, 07-04-00270).

Литература

- Дегтярева Г.В. Анализ соответствия молекулярных и морфологических данных при анализе филогении на примере семейств бобовые (*Leguminosae*) и зонтичные (*Umbelliferae*): Дисс... канд. биол. наук. М., 2007. 212 с.
- Клюйков Е.В. Новый вид рода *Elaeosticta* (*Umbelliferae*) из Ирана // Бот. журн. 2005. Т. 90. № 7. С. 1073–1076.
- Клюйков Е.В., Пименов М.Г. Ботанико-географический анализ рода *Elaeosticta* Fenzl (*Umbelliferae*) // Бюл. МОИП, отд. биол. 1978. Т. 83. № 5. С. 100–115.
- Клюйков Е.В., Пименов М.Г., Тихомиров В.Н. *Elaeosticta* Fenzl – род семейства *Umbelliferae*, самостоятельный по отношению к *Scaligeria* DC. // Бюл. МОИП, отд. биол. 1976. Т. 81. № 6. С. 83–94.
- Клюйков Е.В., Пименов М.Г., Тихомиров В.Н. Дополнения и уточнения к систематике рода *Elaeosticta* Fenzl и близких таксонов *Umbelliferae-Apioideae* // Бюл. МОИП, отд. биол. 1978. Т. 83. № 6. С. 100–107.
- Пименов М.Г., Клюйков Е.В. Новый вид рода *Elaeosticta* Fenzl (*Umbelliferae*) из западного Памиро-Алая // Бот. журн. 1979. Т. 64. № 9. С. 1312–1313.
- Пименов М.Г., Клюйков Е.В. Критический анализ родов *Hyalolaena* и *Hymenolyta* и близких к ним таксонов *Umbelliferae-Apioideae* // Бот. журн. 1982. Т. 67. № 7. С. 873–889.
- Пименов М.Г., Клюйков Е.В., Терехин А.Т., Девяткова Г.Н. Разграничение родов геофильных зонтичных Средней Азии с помощью методов многомерной статистики // Бот. журн. 1981. Т. 66. № 3. С. 328–340.
- Kelchner S.A., Wendel J.F. Hairpins create minute inversions in non-coding regions of chloroplast DNA // *Curr. Genet.* 1996. Vol. 30. P. 259–262.
- Kim K.-J., Lee H.-L. Widespread occurrence of small inversion in the chloroplast genomes of land plants // *Mol. Cells.* 2005. Vol. 19. P. 104–113.
- Logacheva M.D., Valiejo-Roman C.M., Pimenov M.G. ITS phylogeny of West Asian *Heracleum* species and related taxa of *Umbelliferae-Tordilieae* W.D.J.Koch, with notes on evolution of their *psbA-trnH* sequences // *Pl. Syst. Evol.* 2008. Vol. 270. P. 139–157.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК SPELT 1 И SPELT52 ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЭВОЛЮЦИИ ПШЕНИЦ И ЭГИЛОПСОВ МЕТОДОМ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU

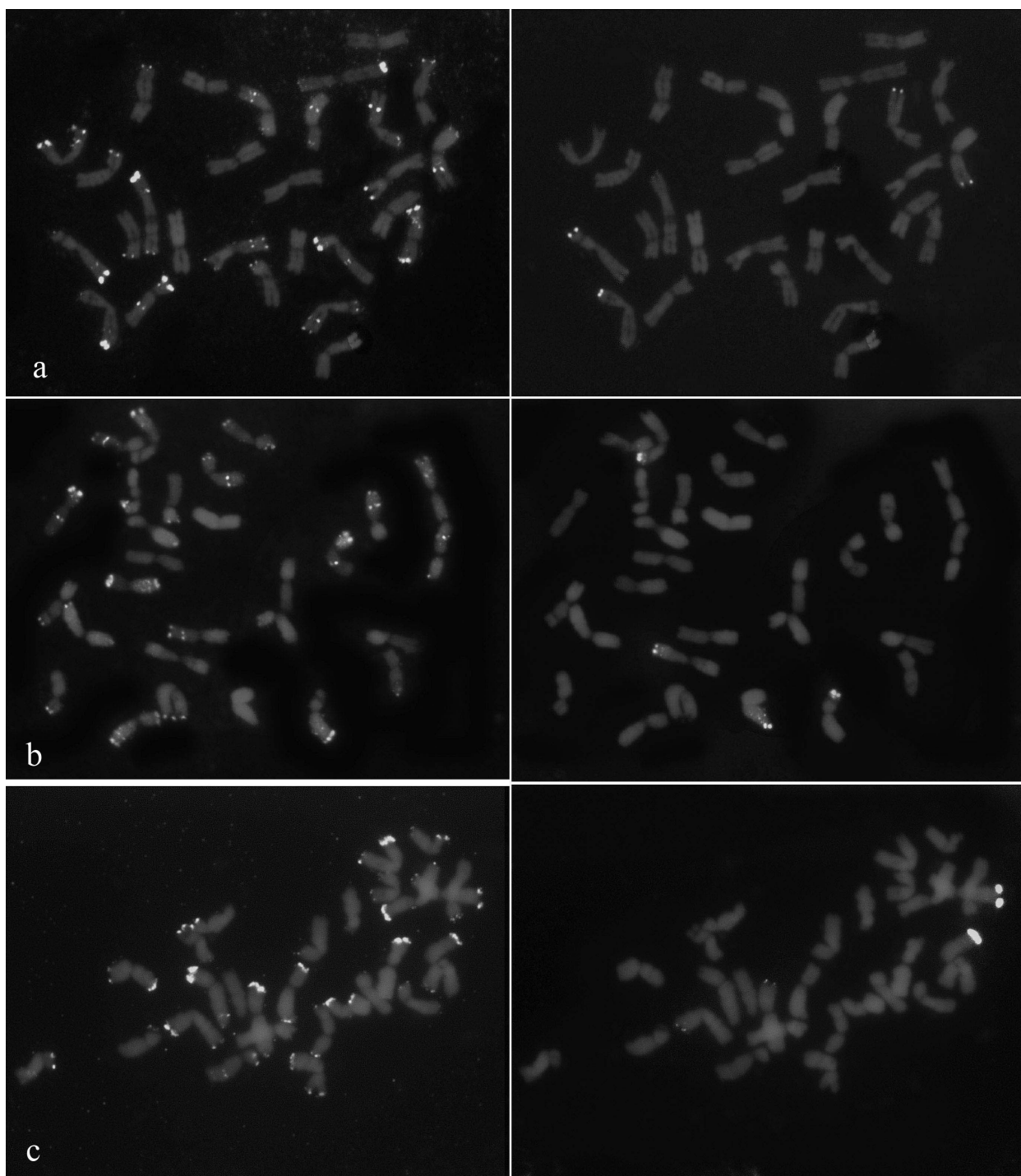
Зошук Н.В., Зошук С.А., Амосова А.В., Бадаева Е.Д.

Москва, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН e-mail: znv@hotmail.ru

С помощью флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) исследовано распределение двух семейств тандемно повторяющихся последовательностей ДНК – Spelt1 и Spelt52 (Salina et al., 1998) – на хромосомах 33 образцов восьми полиплоидных видов пшеницы группы Emmer (*Triticum dicoccoides*, *T. dicoccum*, *T. durum*, *T. polonicum*, *T. carthlicum*, *T. aethiopicum*, *T. aestivum* и *T. spelta*) и 10 образцов трех полиплоидных видов пшеницы группы Timopheevi [*Triticum araraticum* (7), *T. timopheevii* (2) и *T. kiharae* (1)], а также 4 образцов *Aegilops* (*Ae. speltoides*, *Ae. kotschyii* и *Ae. peregrina*). Было установлено, что оба типа последовательностей расположены в субтеломерных участках хромосом.

Сравнение картины гибридизации последовательности Spelt1 на хромосомах полиплоидных линий пшеницы группы Emmer и другой, более молодой в эволюционном отношении, группы Timopheevi показало, что общее количество сайтов гибридизации и их размер на хромосомах видов пшеницы группы Emmer было значительно меньше. У разных образцов линий пшеницы группы Emmer этот повтор обнаруживался как в коротких, так и в длинных плечах хромосом 2A и 6B, на коротком плече 1B хромосомы и только на длинных плечах хромосом 2B и 3B. У видов группы Timopheevi сигналы наблюдались только в 2A¹L и 6GS, а на хромосомах 3B и 3G они обнаруживались в разных плечах.

Сравнение распределения Spelt1 и Spelt52 повторов на хромосомах полиплоидных пшениц групп Эммер и Timopheevi с диплоидным *Ae. speltoides*, предполагаемым донором G-генома, выявило снижение уровня гибридизации, выражающееся как в уменьшении числа сайтов на геноме, так и снижении их размеров. Предполагают, что это может быть связано как с элиминацией повторов при полиплоидизации и последующей эволюции пшеницы, так и «эффектом основателя», поскольку в синтезе предковой формы пшеницы Тимофеева мог участвовать генотип *Ae. speltoides* (высоко полиморфного по распределению Spelt1 и Spelt52 последовательностей вида), локализация повторов на хромосомах которого была сходна с таковой у современной пшеницы.



Распределение повторов: pSc119.2 (слева), Spelt1 (справа, а и б) и Spelt52- (справа, в) на хромосомах *T. dicoccoides* IG116181(Турция) [а], *T. dicoccoides* IG46148 (Турция) [б], *Ae. peregrina* TA1885 (в).

Второй тандемный повтор Spelt52 был выявлен в субтеломерных участках двух пар хромосом эгилопсов. Хромосомное распределение и интенсивность сигналов Spelt52 повтора были неизменными у *Ae. variabilis* (*peregrina*)TA1893/ *Ae. peregrina* TA1885 (рисунок).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-00302-а).

Литература

Зошук С.А., Бадаева Е.Д., Зошук Н.В., Адонина И.Г., Щербань А.Б., Салина Е.А. Исследование внутри-видовой дивергенции пшениц группы *Timopheevi* методом гибридизации *in situ* с семействами тандемных повторов Spelt1 и Spelt52 // Генетика. 2007. Т.43. №6. С. 1–11.

Salina E.A., Pestsova E.G., Adonina I.G., Vershinin A.V. Identification of a new family of tandem repeats in Triticeae genomes // Euphytica. 1998. V. 100. P. 231–237.

Salina E.A., K.Yoong Lim, Badaeva E.D., Shcherban A.B., Adonina I.G., Amosova A.V., Samatadze T.E., Vatolina T.Y., Zoshchuk S.A., Leitch A.R. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section *Sitopsis* and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids // Genome. 2006. V.49

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ ЗЛАКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОВОГО СЕМЕЙСТВА ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ FAT1

Зошук С.А., Зошук Н.В., Бадаева Е.Д.

Москва, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, slavazo@mail.ru

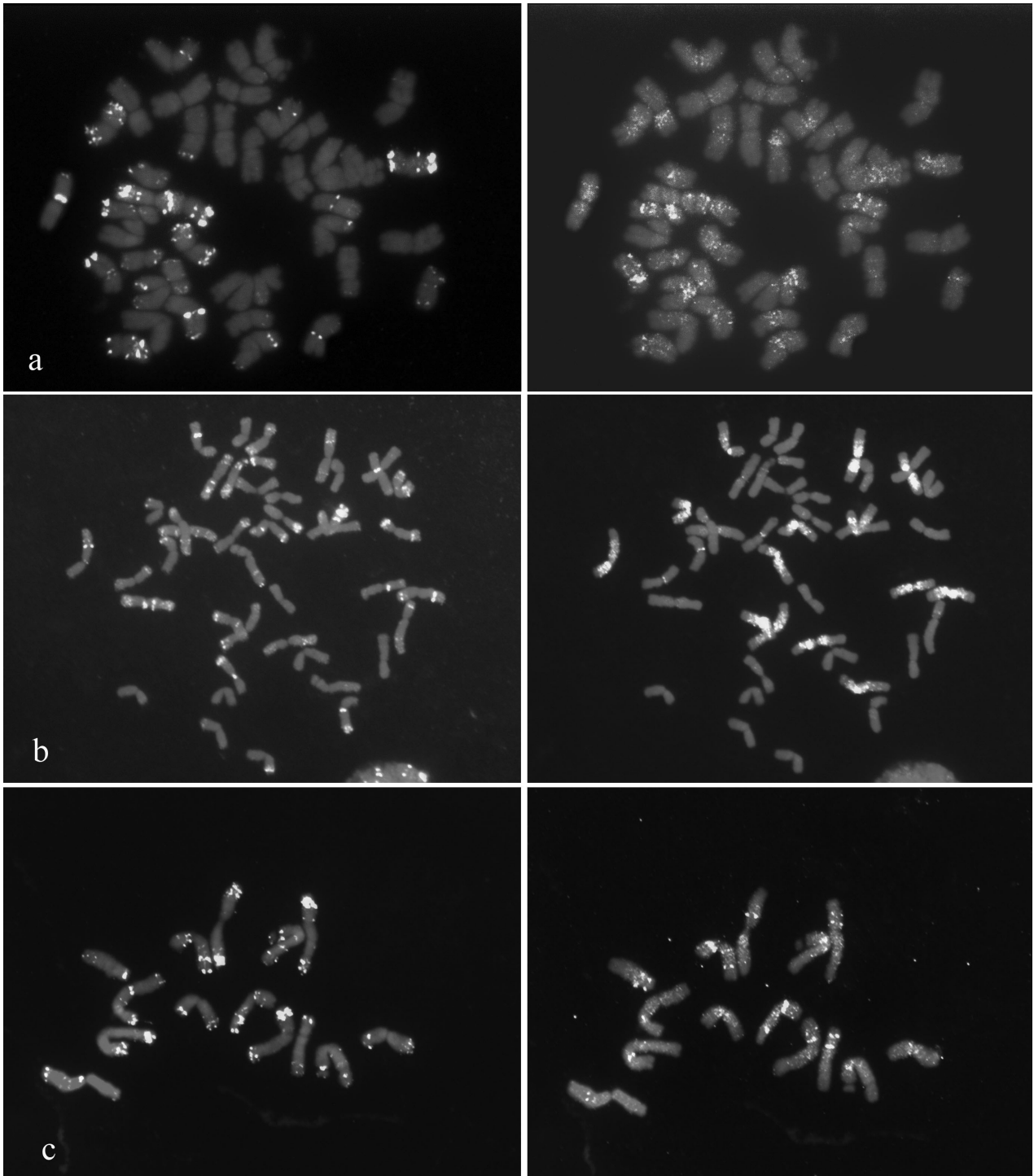
С помощью гибридизации *in situ* с новым семейством тандемно повторенных последовательностей ДНК (FAT), полученным из ВАС-библиотеки 3В хромосомы пшеницы (Safar et al., 2004), исследована эволюция кариотипов злаков. Проведенный в национальном институте сельско-хозяйственных ресурсов (INRA, Клермон-Ферран, Франция) молекулярный анализ показал, что длина FAT последовательности составляет 500 п.н., и она содержит сайты рестрикции эндонуклеазы *Fat1*. По данным (Paux et al. 2006), В-геном пшеницы содержит около 70 000 копий FAT-последовательности, что составляет около 5% его размера. Качественную оценку содержания и распределения повтора проводили методом двойной флуоресцентной *in situ* гибридизации, где для идентификации хромосом В- и D- геномов использовались пробы pSc119.2 (120 п.н.) и pAs1 (1000 п.н.).

Всего в работе было проанализировано 36 образцов 25 видов *Aegilops* (десять диплоидных, двенадцать тетраплоидных и три гексаплоидных), а также 17 образцов 8 видов рода *Triticum*, 4 вида *Hordeum*, *Secale cereale*, одной формы первичного гексаплоидного тритикале, *Agropyron glaucum* и *Avena magna* (Таблица). Проведенный анализ показал, все хромосомы изученных видов эгилопсов, пшеницы и ржи (А, В, D, G, С, S, U, М, N, I, R-геномы) в разной степени гибридизуются с FAT-последовательностью. Исключение составили только виды ячменя и *A. magna*, на хромосомах которых не было выявлено четких гибридизационных сигналов. Наиболее интенсивная гибридизация наблюдалась на хромосомах D-генома эгилопсов и пшениц и S-геноме *A. glaucum* (ранее предполагалось, что FAT-последовательность может быть В-геном специфичной, подобно хорошо изученной и широко используемой в гибридизации *in situ* пробе pSc119. 2). хорошая гибридизация также отмечена на хромосомах М- и N-геномов *Aegilops*, тогда как на остальных геномах гибридизация была значительно слабее.

Изложенные факты позволяют предположить, что в ходе эволюции злаков *Fat1* повтор мог впервые появиться на этапе дивергенции представителей рода *Hordeum* от общего предка, которая по приблизительным оценкам произошла 11 млн лет назад (Huang et al. 2002). Последующая эволюция сопровождалась увеличением содержания данного повтора, которое достигло максимальных значений в S-геноме видов рода *Agropyron* и D геноме видов *Aegilops-Triticum*, являющихся наиболее молодыми в эволюционной цепи злаков (Флейвел 1986).

У всех изученных злаков мечение проходило по всей длине хромосом, с преимущественной локализацией в проксимальных областях, и носило в основном диффузный характер. Наиболее интенсивная гибридизация выявлена на хромосомах 4, 1, 6 и 7 групп D, М и N-геномов, у них, помимо диффузного мечения, отмечены также кластерные сигналы (рисунок). Характер распределения пробы сохраняется в межвидовых и межродовых гибридах. У *Ae. tauschii* выявлен незначительный внутривидовой полиморфизм распределения FAT-последовательности, у остальных видов гибридизация этой пробы на хромосомах разных образцов проходила одинаково.

Результаты наших исследований позволяют рекомендовать использовать FAT-последовательность, наряду с pAs1 клоном, для идентификации хромосом и геномов и исследования эволюции кариотипов D-геном содержащих видов *Aegilops* и рода *Agropyron*.



Распределение rAs1 (слева) и Fat1 (справа) повторов на хромосомах *Aegilops vavilovii* (a), *Agropyron glaucum* (b), *Ae. tauschii* (c)

Растительный материал, использованный в работе

Род	Вид	Плоидность	Геномный состав	
Aegilops	<i>Ae. speltoides</i>	2n = 2x = 14	S	
	<i>Ae. longissima</i>		S ¹	
	<i>Ae. taushii</i>		D	
	<i>Ae. umbellulata</i>		U	
	<i>Ae. sinnyi</i>		A	
	<i>Ae. caudata</i>		C	
	<i>Ae. searsii</i>		S ^c	
	<i>Ae. bicornis</i>		S ^b	
	<i>Ae. sharonensis</i>		S ^{sh}	
	<i>Ae. uniaristata</i>		N	
	<i>Ae. columnaris</i>		2n = 4x = 28	XU
	<i>Ae. biuncialis</i>	U ^b M ^b		
	<i>Ae. ventricosa</i>	D ^v N		
	<i>Ae. triuncialis</i>	UC		
	<i>Ae. crassa</i>	X ^c D ¹		
	<i>Ae. cylindrica</i>	CD		
	<i>Ae. variabilis</i>	US		
	<i>Ae. kotschyi</i>	US		
	<i>Ae. peregrina</i>	US		
	<i>Ae. variabilis (peregrina)</i>	US		
	<i>Ae. triaristata</i>	XU		
	<i>Ae. ovatum</i>	MU		
	<i>Ae. trivialis</i>	2n = 6x = 42	X ^c D ¹ D ²	
	<i>Ae. recta</i>		XUN	
	<i>Ae. vavilovii</i>		DXS	
	Triticum	<i>T. boeoticum</i>	2n = 2x = 14	A ^b
		<i>T. monococcum</i>		A ^m
<i>T. urartu</i>		A ^u		
<i>T. timopheevi</i>		2n = 4x = 28	AG	
<i>T. dicoccoides</i>			AB	
<i>T. aestivum</i>		2n = 6x = 42	ABD	
<i>T. kiharae</i>			A'DG	
Triticale		2n = 6x = 42	ABR	
Hordeum	<i>H. spontaneum</i>	2n = 2x = 14	I	
	<i>H. vulgare</i>		I	
	<i>H. chilense</i>	2n = 4x = 28	HH	
	<i>H. geniculata</i>		XX ₁	
Secale	<i>S. cereale</i>	2n = 2x = 14	R	
Avena	<i>A. magna</i>	2n = 2x = 14	AC	
Agropyron	<i>A. glaucum</i>	2n = 2x = 14	X	

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-00302-а).

Литература

Флейвел Р. Амплификация, делеция и перегруппировка последовательностей: основные источники изменчивости в процессе дивергенции видов. Эволюция генома. Мир, Москва, 1986. С. 291–312.

Huang S., Sirikhachornkit A., Su X., Faris J., Gill B., Haselkorn R., Gornicki P. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002. Vol. 99. P. 8133–8138.

Paux E., Roger D., Badaeva E., Gay G., Bernard M., Sourdille P., Feuillet C. Characterizing the composition and evolution of homoeologous genomes in hexaploid wheat through BAC-end sequencing on chromosome 3B // The Plant Journal. 2006. Vol. 48. P. 463–474.

Safár J., Bartos J., Janda J., Bellec A., Kubaláková M., Valárik M., Pateyron S., Weiserová J., Tusková R., Čihalíková J., Vrána J., Simková H., Faivre-Rampant P., Sourdille P., Caboche M., Bernard M., Dolezel J., Chalhou B. Dissecting large and complex genomes: flow sorting and BAC cloning of individual chromosomes from bread wheat // Plant J. 2004 Sep. Vol. 39. № 6. P. 960–968.

ЯДРЫШКОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ АВТОТРАНСПОРТНЫМ КОМПЛЕКСОМ

Калаев В.Н., Логачева А.А.

Воронеж, Воронежский государственный университет

Ведущую роль в загрязнении воздушного бассейна играет автомобильный транспорт. Вклад которого в отдельные в загрязнение атмосферного воздуха г. Воронежа составляет от 83 до 91%. В связи с этим важным является создание высокоустойчивых к загрязнению лесонасаждений вблизи автодорог. Ценной древесной породой используемой в том числе и для создания защитных лесополос и рекреационных зон около промышленных предприятий является дуб черешчатый (*Quercus robur* L.). Чувствительной цитогенетической характеристикой стрессового воздействия на организм является ядрышковые показатели, которые можно использовать для выявления влияния на геном неблагоприятных факторов еще на уровне функциональных перестроек генома. В связи с чем нами была предпринята попытка провести исследования ядрышковых характеристик (площади поверхности одиночных ядрышек, частоты встречаемости различных типов, а также корреляционных связей ядрышковых характеристик друг с другом), для того чтобы оценить влияние автотранспорта на цитогенетическую систему семенного потомства дуба черешчатого. Исследования проводили в районе 9 км Задонского шоссе (трасса Воронеж-Москва) на опытных площадях, непосредственно прилегающих к автомагистрали и на территории, расположенной в глубине лесного массива на расстоянии приблизительно 1 км от дороги. Сбор, проращивание и фиксацию материала осуществляли по описанной ранее методике (Буторина и др., 2000). Всего было проанализировано 6900 клеток от 46 проростков. В результате проведенных исследований выявлено, что на опытной территории расположенной вблизи автомагистрали отмечается рост площади поверхности одиночных ядрышек по сравнению проростками желудей деревьев, произрастающих на территории удаленной от дороги ($84,6 \pm 3,1$ мкм² и $75,6 \pm 3,7$ мкм², соответственно, различия между территориями достоверны ($P < 0,05$)). Указанное явление можно объяснить усилением метаболической активности в клетках проростков желудей под воздействием загрязнения, обусловленного выхлопными газами автотранспорта. Анализ площади поверхности ядрышек различных типов выявил, что вблизи автомагистрали у проростков желудей происходит увеличение по сравнению с проростками желудей, собранных на удаленной от дороги территории площади поверхности только умеренноактивных ядрышек «кора-сердцевина вакуолизированные» ($89,0 \pm 3,1$ мкм² и $79,8 \pm 3,6$ мкм², соответственно ($P < 0,05$)) и вакуолизированных ядрышек ($37,1 \pm 7,0$ мкм² и $18,4 \pm 7,6$ мкм², соответственно ($P < 0,05$)). Площадь поверхности высокоактивных ядрышек практически не изменяется и составляет для ядрышек «кора-сердцевина» ($65,5 \pm 2,7$ мкм² и $65,5 \pm 3,6$ мкм², соответственно) и компактных ядрышек ($15,7 \pm 3,9$ мкм² и $22,9 \pm 6,0$ мкм², соответственно). Изменение площади поверхности одиночных ядрышек можно рассматривать, как попытку компенсировать умеренную активность ядрышек их большей площадью поверхности. Данное предположение подтверждается отрицательной корреляцией между% встречаемости клеток с ядрышками типа «кора-сердцевина» с площадью поверхности одиночных ядрышек (территория у дороги $r = -0,4759$ ($P < 0,05$) и $r = -0,4875$ ($P < 0,05$)). На препаратах проростков желудей, собранных у дороги, отмечается снижение ($P < 0,05$) доли высокоактивных ядрышек «кора-сердцевина» до $17,7 \pm 2,0\%$ по сравнению с этим показателем на территории, удаленной от дороги ($27,7 \pm 3,3\%$) и возрастание доли ($P < 0,05$) умеренноактивных ядрышек «кора-сердцевина вакуолизированные» до $80,6 \pm 2,1\%$ (удаленная от дороги территории ($71,1 \pm 3,5\%$)), вакуолизированных ядрышек до $0,9 \pm 0,2\%$ (удаленная от дороги территории ($0,6 \pm 0,2\%$)). На территории у дороги возрастает число достоверных корреляций ядрышковых характеристик между собой до 49, на удаленной от трассы от трассы территории -39, что согласуется с концепцией Ростово (1999) об усилении связи морфофизиологических показателей организма друг с другом в условиях стресса. Особый интерес представляет, на наш взгляд, корреляция между стандартным отклонением площади поверхности и ядрышек и средним значением указанного показателя, что свидетельствует о существовании в корневой меристеме популяций клеток с высокой и низкой синтетической активностью причем, причем дифференцировка популяций наиболее четко проявляется у проростков с высокой ядрышковой активностью.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых (грант МК-3481.2007.4).

КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЮЖНОУРАЛЬСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА СОСНОВЫЕ (PINACEAE LINDL.)

Калашник Н.А.

Уфа, Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

Основная цель наших исследований – изучение закономерностей эволюционного преобразования кариотипов и хромосомных механизмов адаптации хвойных видов, произрастающих в различных экологических условиях. С

этой целью нами изучена структура кариотипов южноуральских представителей семейства Сосновые – сосны обыкновенной, лиственницы Сукачева, ели сибирской и пихты сибирской, выявлены особенности мутационного процесса в соматической и генеративной тканях, определена степень активности рибосомальных генов.

В качестве материала использовались соматическая (меристема проростков семян) и генеративная (мужской гаметофит) ткани хвойных видов. Изучалась структура кариотипов (Правдин, 1972), определялись частоты хромосомных мутаций на различных стадиях митотического (метафаза, ана-телофаза) и мейотического (метафаза I и метафаза II, ана-телофаза I и ана-телофаза II) циклов, аномальность и фертильность пыльцевых зерен (Паушева, 1980), а также показатели ядерно-ядрышковых отношений, как параметры оценки уровня активности генов р-РНК, обеспечивающих белоксинтетические процессы (Муратова, 1995).

С использованием комплекса цитогенетических методов исследованы десятки пробных площадей из естественных насаждений указанных представителей семейства Сосновые, произрастающих в различных экологических условиях на территории Южного Урала, в том числе в контрастном природном климате (высокогорья, равнины, поймы рек) и при промышленном загрязнении различной степени интенсивности в сравнении с контрольными условиями.

В результате исследований определено, что у всех исследованных видов соматическое число хромосом $2n=24$, в исследованной нами меристематической ткани проростков семян очень редко встречаются отдельные анеуплоидные клетки с числом хромосом 22, 23 или 25 и еще реже полиплоидные клетки с числом хромосом 48. Все это свидетельствует о высокой стабильности исследованных видов по числу хромосом. Хромосомы изученных нами видов имеют крупные размеры, хорошо окрашиваются и четко выражены по форме. У сосны обыкновенной их абсолютная длина составляет 9–20 мкм, среднее значение суммарной длины 330–380 мкм. У ели сибирской и пихты сибирской абсолютная длина хромосом 8–15 мкм, среднее значение суммарной длины 270–320 мкм. У лиственницы Сукачева абсолютная длина хромосом составляет 7–13 мкм, среднее значение суммарной длины 240–260 мкм. Согласно классификации морфометрических типов хромосом (Levan et al., 1964), в хромосомных наборах исследуемых видов определены два типа хромосом – метацентрики и субметацентрики. У сосны обыкновенной, ели сибирской и пихты сибирской большее число хромосом в наборах метацентрического типа и только 1–3 пары являются субметацентриками. В хромосомных наборах лиственницы Сукачева метацентрические и субметацентрические хромосомы представлены в равной степени. Характерным признаком исследованных видов является наличие в их кариотипах вторичных перетяжек хромосом.

У исследуемых видов в изученных нами условия произрастания выявлен высокий полиморфизм по морфометрическим параметрам хромосом и суммарной длине диплоидного набора, а также по числу вторичных перетяжек на кариотип, частоте их встречаемости в хромосомных наборах и локализации на хромосомных плечах. Наиболее показательным отличием хвойных насаждений из условий высокогорий, а также критического и сильного промышленного загрязнения является наличие в их хромосомных наборах большего числа вторичных перетяжек, чем в насаждениях из равнинных и относительно чистых условий произрастания. Так, в условиях высокогорий и промышленного загрязнения в хромосомных наборах сосны обыкновенной и ели сибирской наблюдается 6–8, пихты сибирской 5–6, лиственницы Сукачева 4–5 постоянных вторичных перетяжек. В равнинных и относительно чистых условиях произрастания на метафазных пластинках сосны обыкновенной и ели сибирской обнаружено 3–5, пихты сибирской 3–4, лиственницы Сукачева 1–3 постоянных вторичных перетяжки.

Подтверждением более высокой степени активности рибосомальных генов в условиях высокогорий и сильного промышленного загрязнения являются показатели средних значений ядерно-ядрышковых отношений, которые на пробах из условий природного и антропогенного стресса, как правило, на 3–4 единицы ниже, чем на контрольных (чем меньше показатель, тем больше относительный объем ядрышек). Это, несомненно, определяет тенденцию увеличения активности ядрышкообразующей системы в экстремальных условиях.

Результаты исследования уровня хромосомных нарушений в соматической ткани хвойных показали, что в условиях загрязнения у всех из исследованных видов увеличивается процент аномалий и наблюдается более широкий их спектр. Так, уровень хромосомных нарушений выявленных на стадии ана-телофазы митоза в условиях критического загрязнения в 10,25–11,69 раза, в условиях сильного и умеренного загрязнения в 1,05–5,06 раза выше, чем в относительно чистых условиях. В условиях загрязнения, в основном, наблюдаются 4–6 из выявленных типов аномалий, а в контрольных и фоновых условиях, как правило, наблюдается не более 3–4 типов. Примечательно, что в условиях высокого техногенного загрязнения среди структурных мутаций основную долю составляют фрагментации хромосом, а среди геномных наиболее характерны случаи отрыва отдельных хромосом или группы хромосом от ахроматинового веретена. И то, и другое создает потенциальную возможность потери делящейся клеткой части хромосомного материала, что, безусловно, является патологическим фактором. В условиях высокогорий уровень хромосомных нарушений выявленных на стадии ана-телофазы митоза у сосны обыкновенной в 5,06–8,47 раза, а у ели сибирской в 2,16–3,06 раза выше, чем в равнинных условиях. Характерным в этих условиях является наличие большого числа хроматидных и хромосомных мостов, появление которых может быть обусловлено нарушением явления комплиментарности ввиду множественных хромосомных перестроек.

Уровень хромосомных нарушений выявленных на стадии метафазы митоза в условиях критического загрязнения в 7,5–16,05 раза, в условиях сильного и умеренного загрязнения в 1,25–3,50 раза выше, чем в фоновых условиях. В условиях загрязнения, как правило, наблюдаются 4–5 типов аномалий, а в контрольных и фоновых условиях, в основном, наблюдается не более 1–3 типов. Основную долю нарушений в условиях загрязнения составляют структурные мутации, представленные множественными фрагментациями хромосом, имеют место случаи обнаружения кольцевых и дицентрических хромосом. Геномных мутаций значительно меньше, в основном, это анеуплоидные или полиплоидные клетки, несколько реже клетки с дополнительными хромосомами. В условиях высокогорий уровень хромосомных нарушений выявленных на стадии метафазы митоза у сосны обыкновенной в 3,6–6,4 раза, а у ели сибирской в 1,5–2,5 раза выше, чем в равнинных условиях. Характерным в этих условиях является наличие большего числа кольцевых и дополнительных хромосом.

Результаты изучения генеративной ткани хвойных показали, что у всех исследуемых нами видов в пробах с загрязненных территорий аномалии в процессе мейоза наблюдаются значительно чаще, чем на контрольных пробах. Так, средний уровень нарушений на одну стадию мейоза в условиях загрязнения различной степени интенсивности составляет 2,1%–9,88%, в контрольных и фоновых условиях только 0,5%–1,8%. В условиях загрязнения наблюдается более широкий спектр нарушений, характерна более частая встречаемость нарушений структурного характера – фрагментаций, хромосомных мостов, кольцевых хромосом, отмечено также большое число отставаний, выбросов и слипаний хромосом. Наиболее часто нарушения в процессе мейоза наблюдаются на стадии ана-телофазы II, в основном, за счет образования триад. У ели сибирской в горных условиях средний уровень нарушений на одну стадию мейоза составляет 2,33–3,2%, в условиях поймы реки только 0,5%. В горных условиях также наблюдается более широкий спектр нарушений, характерна частая встречаемость хромосомных мостов и триад.

Результаты исследования пыльцевых зерен показали, что в условиях загрязнения и высокогорий у исследованных хвойных видов увеличивается процент аномалий и наблюдается более широкий их спектр. Так, потенциальная фертильность пыльцы, выявленная использованными цитологическими методами, в условиях критического загрязнения составила 62,0%–68,6%; в условиях сильного загрязнения – 72,5% – 82,3%; в условиях умеренного загрязнения – 82,9%–89,4%; в относительно чистых, контрольных условиях – 82,4%–93,7%. В условиях высокогорий фертильность пыльцевых зерен составила 77,2% и 81,0%, в то время как в условиях поймы реки – 92,5%. В условиях загрязнения и высокогорий, в основном, наблюдаются 5–6 из выявленных типов аномалий. Более всего встречаются стерильные и мелкие пыльцевые зерна, а также пыльцевые зерна без воздушных мешков. В контрольных и фоновых условиях, как правило, наблюдается не более 3 типов аномалий.

В целом у исследованных южноуральских представителей семейства Сосновые из различных экологических условий произрастания обнаружены различия по структуре кариотипов, степени активности ядрышкового организатора хромосом и уровню мутационного процесса. Наблюдаемая у хвойных видов высокая хромосомная изменчивость по мнению различных исследователей может быть обусловлена обширностью занимаемых ими ареалов (Абатурова, 1978), географическими условиями произрастания (Кириченко, 1984; Шишнинишвили, 1968), генетической адаптацией растений к экологическому разнообразию (Ильченко, 1978; Кириченко, 1984), а также генетико-автоматическими процессами, происходящими в малых изолированных популяциях (Бударагин, 1973). Результаты полученные нами также позволяют установить влияние фактора среды обитания на изменчивость у хвойных видов многих хромосомных характеристик, выявить некоторые тенденции структурного преобразования их кариотипов, что, несомненно расширяет представления о механизмах микроэволюционных процессов в семействе Сосновые.

Литература

- Абатурова Г.А. Кариотип сосны обыкновенной в Европейской части СССР // Научные основы селекции хвойных древесных пород. М., 1978. С. 66–82.
- Бударагин В.А. Анализ кариотипов изолированных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в Северном и Центральном Казахстане // Генетика. 1973. Т.9. № 9. С.41–52.
- Ильченко Т.П. Кариологическая изменчивость *Pinus sylvestris* L. // Редкие и исчезающие древесные растения юга Дальнего Востока. Владивосток, 1978. С. 67–72.
- Муратова Е.Н. Методики окрашивания ядрышек для кариологического анализа хвойных // Ботан. журн.. 1995. Т. 80. №2. С. 82–85.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., 1980. 304с.
- Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Кружлик М.В. и др. // Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. 1972. №2. С. 67–72.
- Шишнинишвили П.М. Кариотип сосны Сосновского // Цитология. 1968. Т.10. № 2. С. 255–258.
- Levan A., Fredga K., Sandberg A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes // Hereditas. 1964. Bd .52. S. 201–220.

О РОДЕ *COLPODIUM* SENSU LATO (*POACEAE*): МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Ким Е.С., Носов Н.Н., Мачс Э.М., Пунина Е.О., Родионов А.В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

Род *Colpodium* Trin. представляет интерес с кариологической точки зрения, поскольку имеет в своём составе вид *C. versicolor* с наименьшим числом хромосом $2n=2x=4$, известным для злаков и другие виды с $x=5$ и 7 (Соколовская, Пробатова, 1977; Родионов и др., 2006). Автор рода *Colpodium* Триниус в 1820 г. отнёс к нему *C. stevenii* Trin. (= *Agrostis versicolor* Stev. 1812; *C. versicolor* (Stev.) Schmalh. 1897) и *C. monandrum* Trin. (= *Agrostis algida* Soland., 1775), но в 1821 г. перенёс их в подроды рода *Vilfa*. При этом подрод, включающий *C. stevenii*, стал называться *Colpodium*, а включающий *C. monandrum* – *Phippsia*. В 1824 г. Р. Броун возвёл подрод *Phippsia* в ранг рода, и *C. monandrum* был переименован в *Phippsia algida* R. Br., признаваемый до сих пор (Невский, 1934а; Цвелёв, 1964, 1987; Tzvelev, 1989). Т.о., типом рода *Colpodium* является *C. versicolor* (Stev.) Schmalh (Невский, 1934). В систематику рода разные исследователи (Триниус, Андерсон, Гризехбах, Буассье, Стапф, Шмальгаузен, Воронов, Невский, Цвелёв, Алексеев, Габриэлян и др. авторы) неоднократно вносили изменения (см. Невский, 1934а; Цвелёв, 1964 и др.). Невский во «Флоре СССР» разделил род *Colpodium* на 7 «рядов» (Невский, 1934б). В 1964 г. Цвелёв провёл ревизию, оставив в роде 15 видов и исключив 19 видов. Оставшиеся в составе рода *Colpodium* виды были разделены на 5 подродов, 4 из которых в дальнейшем были возведены в ранг родов *Colpodium sensu stricto* Tzvel., $x=2$; *Catabrosella* Tzvel., $x=5, 6, 7, 9$; *Paracolpodium* Tzvel., $x=7$; *Hyalopoa* Tzvel., $x=7$, а представитель монотипного подрода *Nevskia* Tzvel., $x=7$ *Colpodium araraticum* был отнесён к секции *Nevskia* рода *Catabrosella* (Цвелёв, 1964; Цвелёв, 1967). Позже были описаны новые 3 вида *Hyalopoa* и 1 вид *Paracolpodium* (Гусейнов, 1988; Габриэлян, 2006; Габриэлян, Цвелёв, 2006).

Цель представляемого исследования – изучить методами молекулярной филогении генетическое родство видов *Colpodium* s.l. и определить их место среди других родов триб *Poeae* и *Aveneae*. Для выделения ДНК нами был использован гербарный и семенной материал, собранный в ходе экспедиций лаб. биосистематики и цитологии БИН РАН в Ленинградской и Архангельской обл., Карачаево-Черкесской Респ., Алтайском крае, Респ. Горный Алтай и на Полярном Урале. Определение: Е.О. Пунина, Н.Н. Носов Н.Н. Цвелёв. Также использовался гербарный материал, любезно предоставленный Н.Н. Цвелёвым, В.В. Петровским, Л.Л. Занохой, С.В. Чиненко, Н.В. Матвеевой (БИН РАН), И.Г. Лоскутовым (ВИР РАСХН). Район ITS1–5.8SpPНК–ITS2 ядерного гена 45S рPНК секвенирован у более чем 50 видов *Pooideae* так, как описано нами ранее (Родионов и др., 2005). Полученные последовательности депонированы в базу данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), из которой некоторые последовательности, секвенированные другими авторами, также были взяты в анализ.

Филогенетическое древо на рис. 1 реконструировано методом ближайшего соседа, расчёт по расстояниям Джукса-Кантора, с попарным удалением гэпов, 20000 итерациями бутстрэп-поддержки (BS), с 15% кат-офф. Прописными буквами выделены виды, ITS которых секвенированы нами.

Colpodium versicolor (Карачаево-Черкессия) демонстрирует значительное генетическое расстояние от большинства других видов *Colpodium* s.l. и, как мы показали ранее (Ким и др., 2004), образует общую кладу с *Zingieria biebersteiniana*, а также с *Z. trichopoda* (этикетка гербария: 5–6.07.1916. Грузия. Тифлис. Горийский р-н. Между горой Цхра-Цхаро и Тибисцхурским озером. Собр. и опр.: Крылов П.Н., Штейнберг Е.И.).

Catabrosella araratica, ранее рассматриваемая как единственный представитель ряда *Reticulata* рода *Colpodium* (Невский, 1934б), подрода *Nevskia* рода *Colpodium* (Цвелёв, 1964) или секции/подрода *Nevskia* рода *Catabrosella* (Цвелёв, 1976; Алексеев, 1988), располагается далеко от *Catabrosella* s.str., но в одной кладе (BS=99) с двуххромосомными злаками *C. versicolor* и *Zingieria* spp.

Paracolpodium altaicum, *Hyalopoa lanatiflora*, *Hyalopoa pontica* (образец Т-112), *Catabrosella variegata* и тип *C. subornata*, а также *Catabrosa aquatica* subsp. *aquatica* и *C. aquatica* subsp. *capusii* образуют общую группу, демонстрируя высокую степень родства между собой (BS=80) и чёткое отличие от группы [(*Colpodium* s.str.+*Zingieria* spp.) *Catabrosella araratica*]. По морфологическим данным *Catabrosella* (excl. *Nevskia*) может быть близок к *Poa* sect. *Ochlopoa*, а с *Nevskia*, *Catabrosa* и *Colpodium* s.str. имеет довольно отдалённое родство (Цвелёв, 1964). Судя по ITS, *Catabrosella* действительно далёк от *Nevskia* и *Colpodium* s.str., но с видами рода *Poa* sect. *Ochlopoa* близкого родства не имеет.

Положение представителей рода *Catabrosa* среди *Colpodium* s.l. (excl. *C. versicolor*) свидетельствует о его близости к *Hyalopoa*, *Paracolpodium* и *Catabrosa*, хотя ранее виды рода *Catabrosa* были исключены из рода *Colpodium* s.l. (Цвелёв, 1964).

Образец *H. pontica* Т-112 (Карачаево-Черкессия, ущ. Кышкаджер) демонстрирует большую близость с *Catabrosella variegata* и *C. subornata*, чем с *H. lanatiflora*, образующим общую группу с *Catabrosa aquatica*.

Образец *H. pontica* T-76 (Карачаево-Черкессия, ущ. Назылкол) занимает базальное положение в группе *Poa*, за исключением дивергирующей ранее sect. *Ochlopoa*, возможно, демонстрируя принадлежность к *Poa*. Различие последовательностей ITS *Hyalopoa pontica* T-76 и T-112, по-видимому, является следствием преимущественного присутствия в каждом из них в составе тетраплоидного генома кластеров 45S рДНК, ведущих свою линию от разных родительских растений. Проблема будет изучена нами в дальнейшем, но, в общем, полученные результаты согласуются с рассмотрением *H. pontica* как пограничного между *Colpodium* s.l. и *Poa*, спорное разделение которых отмечали Буассье и Альбов (1895, см: Невский, 1934а). Отметим, что, *Catabrosa pontica* Bal., 1874 (= *Colpodium ponticum* (Bal.) Woron., 1909, Турция), был описан как *Poa capillipes* Somm. et Lev., 1893, Абхазия (см.: Невский, 1934а; Цвелёв, 1976).

Hyalopoa сближает не только с *Poa*, но и с монотипным родом *Arctophila* (Цвелёв, 1964), а также с *Dipontia* и *Arctopoa* (Соколовская, Пробатова, 1977). По нашим данным, *H. pontica* и *H. lanatiflora* не имеют прямого родства с этими таксонами.

Paracolpodium altaicum и *P. leucolepis* иногда сближают с родом *Arctagrostis*, который многими авторами объединялся с родом *Colpodium*. Н.Н. Цвелёв (1964) считает *Arctagrostis* и *Paracolpodium* далеко разошедшимися производными одной и той же примитивной ветви *Poa*. По нашим данным, *Arctagrostis latifolia* занимает сестринское положение относительно клады [*Hookerchloa hookeriana*+*Festucella eriopoda* (AY559123 и AY559122, Hunter et al., 2004)], образуя вместе с ними общую группу, сестринскую к [*Arctopoa schischkinii*+*Cinna latifolia* (Райко и др., 2008, не опубл.)].

Colpodium s.l. (excl. *Colpodium* s.str. et *Nevskia*) является сестринским кладе [(*Puccinellia distans*+*Sclerochloa dura* (AF532934, AF532933, Catalán et al., 2004))*Phippsia concinna* (арх. Новая Земля)]. Ранее на основании морфологического сходства, наличия гибридов х*Pucciphippsia vacillans* и х*P. szuczorum* (Löve, Löve, 1975) и сравнительного анализа ПДРФ хпДНК (Choo et al., 1994), высказывалось предложение рассматривать *Phippsia* и *Puccinellia* (Löve, Löve, 1975) и даже *Phippsia*, *Puccinellia* и *Sclerochloa* (Choo et al., 1994) в пределах одного монофилетического рода. Последовательности ITS этих видов образуют группу с BS=50, что не даёт оснований для такого заключения, но, несомненно, свидетельствует об их генетической близости.

Главные выводы из проведённого исследования состоят в том, что судя по ITS, *Catabrosa aquatica* достоверно входит вместе с представителями *Paracolpodium*, *Hyalopoa* и *Catabrosella* в состав общей группы, генетически достаточно удалённой от клады, объединяющей двуххромосомные злаки *Colpodium versicolor* и *Zingieria* spp. и *Nevskia*. Возможно, *Catabrosella araratica* следует рассматривать в качестве представителя монотипного рода с предполагаемым названием *Nevskia*.

Работа финансировалась из средств гранта РФФИ № 06-04-48399 и Программы «Динамика генофондов».

Литература

- Габриэлян Э.Ц. *Gaudinopsis egorovae* и *Paracolpodium tzvelevii* (Poaceae) – новые виды из Армении // Бот. журн. 2005. Т. 90. № 12. С. 1887–1891.
- Габриэлян Э.Ц., Н.Н. Цвелёв. *Hyalopoa hraciziana* (Poaceae) – новый вид из Армении // Бот. журн. 2006. Т. 91. № 7. С. 1087–1091.
- Гусейнов Ш.А. Новые виды родов *Calamagrostis* и *Hyalopoa* (Poaceae) // Бот. журн. 1988. Т. 73. № 12. С. 1741–1744.
- Ким Е.С., Пунина Е.О., Тюпа Н.Б., Родионов А.В. Монофилетическое происхождение двуххромосомных (2n=4) злаков *Zingieria biebersteiniana* и *Colpodium versicolor* // Тез. докл. на «Международной конференции молодых ботаников в Санкт-Петербурге». Санкт-Петербург, 2004. С. 245.
- Невский С.А. Новые данные к систематике рода *Colpodium* Trin. // Бюлл. МОИП. 1934а. Отд. Биология. Т. XLIII. № 2.
- Невский С.А. Род 172. Колподиум – *Colpodium* Trin. // Флора СССР. Под ред. В.Л. Комарова. Т. II. Л.: Изд-во Академии Наук СССР. 1934б. С. 434–445.
- Родионов А.В., Тюпа Н.Б., Ким Е.С., Мачс Э.М., Лоскутов И.Г. Геномная конституция автотетраплоидного овса *Avena macrostachya*, выявленная путём сравнительного анализа последовательностей ITS1 и ITS2: к вопросу об эволюции кариотипов овсов и овсягов на ранних этапах дивергенции видов рода *Avena* // Генетика. 2005. Т. 41. № 5. С. 646–656.
- Соколовская А.П., Пробатова Н.С. О наименьшем числе хромосом (2n=4) у *Colpodium versicolor* (Stev.) Woronow (Poaceae) // Бот. журн. 1977. Т. 52. № 2. С. 241–245.
- Цвелёв Н.Н. О роде *Colpodium* Trin. // Новости систематики высших растений. 1964. Т. I. С. 5–19.
- Цвелёв Н.Н. Система злаков (Poaceae) и их эволюция // Комаровские чтения. Л., 1987. Вып. 37. 75 с.
- Цвелёв Н.Н., Жукова П.Г. О наименьшем основном числе хромосом (x) в семействе злаков (Poaceae) // Бот. журн. 1974. Т. 59. С. 2.
- Choo M.K., Soreng R.J., Davis J.I. Phylogenetic relationships among *Puccinellia* and allied genera of Poaceae as inferred from chloroplast DNA restriction site variation // American Journal of Botany. 1994. Vol. 81. № 1. P. 119–126.
- Löve A., Löve D. Nomenclatural notes on Arctic plants // Botaniska Notiser. 1975. Vol. 128. P. 497–523.
- Tzvelev N.N. The system of Grasses (Poaceae) and their evolution // The Botanical Review. 1989. Vol. 55. № 3. P. 141–204. Originally published as № 37 of Komarov Readings, 1987.

ПОЛИМОРФИЗМ *MILIUM EFFUSUM* L. (*POACEAE*) В ГЕОГРАФИЧЕСКОМ АРЕАЛЕ ВИДА, ПО ДАННЫМ ITS СЕКВЕНИРОВАНИЯ РИБОСОМАЛЬНОЙ ДНК

Коцера В.В.¹, Пробатова Н.С.², Франк Блаттнер³

¹Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН

²Владивосток, Биолого-почвенный институт ДВО РАН

³Gatersleben, Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK)

Род *Milium* L. относится к трибе *Poeae* (s. ampl.). Около 10 видов этого рода распространены в умеренных и субтропических странах северного полушария. В роде выделяются две секции: типовая секция *Milium*, к которой принадлежат многолетние виды лесов и лугов, и древнесредиземноморская секция *Miliellum* Tzvel., с однолетними видами – эфемерами (Цвелёв, 1976). Типовая секция *Milium* объединяет растения с относительно примитивными признаками, в ней – 3 вида: почти голарктический лесной вид *M. effusum* L. и два кавказских горнолуговых: *M. schmidtianum* C. Koch (кавказско-малоазиатский) и *M. transcausicum* Tzvel. (южно-кавказский), они различаются по характеру подземных побегов, шероховатости стебля и влагалищ листьев, общими размерами растений, шириной листовых пластинок, формой метёлок.

Наибольшее таксономическое разнообразие в роде *Milium* наблюдается на Кавказе и в Передней Азии, ареалы большинства таксонов рода сосредоточены в области Древнего Средиземья. Таксономическое разнообразие у *Milium* на Кавказе и в Передней Азии может свидетельствовать о близости этих районов к центру происхождения и таксономической дифференциации. Нахождение в западно-прикаспийской части общего ареала рода первичного диплоида (с $2n = 14$), явно реликтового, однолетника-эфемера *M. alexeenkoi* (Tzvel.) Tzvel. (секция *Miliellum*) – несомненное указание на то, что эта область – наиболее древняя часть ареала рода. Относительно молодыми можно считать районы распространения таксонов *Milium* у пределов или вне пределов области Древнего Средиземья (Пробатова и др., 2000).

M. effusum распространен во внетропических областях Евразии, в северной Африке и на западе Северной Америки. Среди видов рода *M. effusum* обладает наиболее широким ареалом, он же – единственный представитель рода на Тихоокеанском побережье Азии и в Северной Америке; единственный вид этого рода во флоре Дальнего Востока России, где спорадично встречается в большинстве районов: к северу до левобережья р. Амгунь (приток Амура) и на большей части п-ова Камчатка, но при этом он отсутствует на северных Курильских и Командорских островах (Пробатова, 1985). *M. effusum* поднимается в горы лишь до среднего горного пояса; это преимущественно неморальный вид, заходящий частично и в таежную зону. Экологический ареал у *M. effusum* крайне ограниченный, гармоничный и почти полностью реализованный (Селедец, Пробатова, 2003). Это означает, что вид может существовать в очень узких рамках экологических факторов – увлажнения, богатства-засоленности почвы, он высоко специализирован.

В роде *Milium* известно большое разнообразие чисел хромосом: от $2n = 8$ до $2n = 42$ (Пробатова и др., 2000). Многолетники секции *Milium* характеризуются полиплоидией разных уровней, – $4x$ и $6x$, при основном числе хромосом $x = 7$. В пределах уникального однолетнего комплекса *M. vernale* aggr. наблюдаются различные основные числа хромосом: $x = 4, 5, 7$ и 9 (а также, возможно, 11). Мы показали, что в пределах очень небольшого рода *Milium* выявляются разнообразные направления и способы эволюции (Пробатова и др., 2000): не только полиплоидизация (весьма характерная для злаков), но, кроме того, здесь прослеживается путь, менее распространённый у злаков в целом, но, всё же, свойственный двум близкородственным трибам *Aveneae* и *Poeae* s. str., – путь преобразования основного числа хромосом (x).

Вопрос о полиморфизме наиболее широко расселившегося вида *M. effusum* ещё очень мало разработан; не способствует этому и константное тетраплоидное число хромосом $2n = 28$. Действительно, все наши прежние и новые определения числа хромосом у *M. effusum* – из Новгородской обл. (р. Волхов), Украины (в т.ч. Закарпатья), Молдавии, Кавказа (Кабардино-Балкария, Северная Осетия), Алтая, Казахстана, Новосибирской обл. (Салаир), Байкальской Сибири (Бурятия), Амурской обл., Хабаровского края (устье р. Уссури и Нижний Амур), Приморского края (в т.ч. из Сихотэ-Алинского заповедника и островов залива Петра Великого), Сахалина (в т.ч. с п-ова Шмидта), Курильских (Уруп, Итуруп, Кунашир, Шикотан) островов – неизменно показывали $2n = 28$. Тем не менее, очень возможно, что в пределах этого вида имела место внутривидовая дифференциация, ещё не нашедшая достаточно весомого выражения в признаках внешней морфологии, а, значит, и в таксономических решениях. Так, например, мы предполагали, что у *M. effusum* имеются хеморасы: наш образец происхождения с Украины (окраина г. Киева, Пуща-Водица) имел резкий кумариновый запах (чего не наблюдалось, например, у других, многочисленных исследованных нами образцов). Возможно, найдутся основания считать целесообразным выделение, в качестве особого таксона, кавказско-алтайско-казахстанской горной расы *M. effusum*, с очень крупными продолговатыми метёлками и необычно широкими пластинками листьев, которая встречается в горных лесах на высотах от 2100 м и выше над ур. моря. В литературе иногда встречаются упоминания о некоторых разновидностях *M. effusum* (например, var. *coloratum* – из Прибайкалья, var. *cisatlanticum* – из Канады).

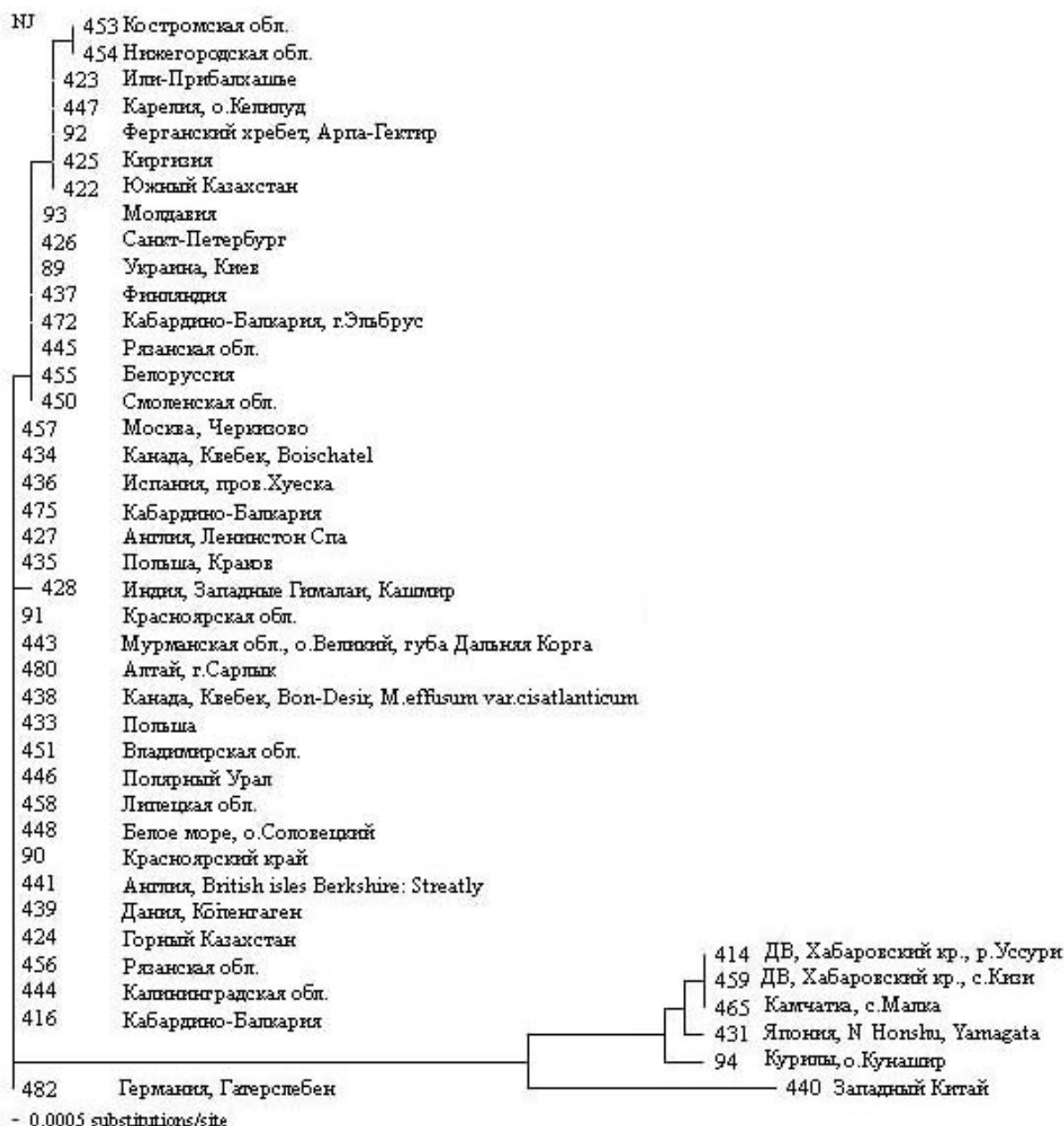


Рис. 1. Древо, демонстрирующее эволюционные взаимоотношения, построенные на основе ITS1-5.8S-ITS2 района рибосомального гена у 45 географически удаленных популяций *M. effusum* ($2n=4x=28$).

Надо признать, что *M. effusum* – древний полиплоид, распространившийся на огромных территориях уже к моменту разъединения Евразии и Северной Америки. При сравнении хромосомных наборов 14-хромосомного *M. alexeenkoi* и 28-хромосомного *M. effusum* (Пробатова и др., 2000), мы допускали, что *M. effusum* является ауотетраплоидным производным анцестральной первично диплоидной расы, где в процессе становления и расселения вида происходили структурные изменения анцестрального кариотипа. Однако также существует предположение о гибридном происхождении *M. effusum*. В настоящее время в роде *Milium* не известны другие первичные диплоиды (кроме *M. alexeenkoi*), и можно предположить, что они вымерли.

Скорее всего, именно тетраплоидный уровень (у *M. effusum*) является для рода *Milium* эволюционно оптимальным, подобно многим другим таксонам злаков. Увеличение количества генетического материала (у *M. effusum* и *M. schmidtianum*, $2n=42$), открывает широкую перспективу рекомбинации генов, служит предпосылкой большой эволюционной мобильности этих таксонов.

В связи с предположением о полиморфизме *M. effusum* мы решили, собрав максимально географически разнобразный материал по этому виду, впервые посмотреть на этот вид с позиций молекулярного анализа нуклеотидной

последовательности ДНК внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомального гена. В нашей работе представлены первые результаты изучения 45 образцов *M. effusum* из различных географически удаленных популяций.

Было произведено секвенирование ITS последовательности у образцов *M. effusum* любезно предоставленных нам из гербариев Владивостока (VLA), Москвы (МНА, MW), Санкт-Петербурга (LE) и Гатерслебена, Германия (GAT). Вовлеченный в наше исследование материал имел следующее происхождение: Россия – европейская часть (Карелия, Калининградская, Мурманская, Ленинградская, Рязанская, Московская, Смоленская, Владимирская, Костромская, Липецкая, Нижегородская области), Кавказ (Кабардино-Балкария), Полярный Урал, Сибирь (Алтайский и Красноярский края), Дальний Восток (Хабаровский край – бассейн Амура, Камчатка, южные Курильские острова); Украина, Молдавия, Казахстан, Киргизия, Таджикистан; Испания, Англия, Дания, Германия, Финляндия, Польша; Индия, Китай, Япония; Канада.

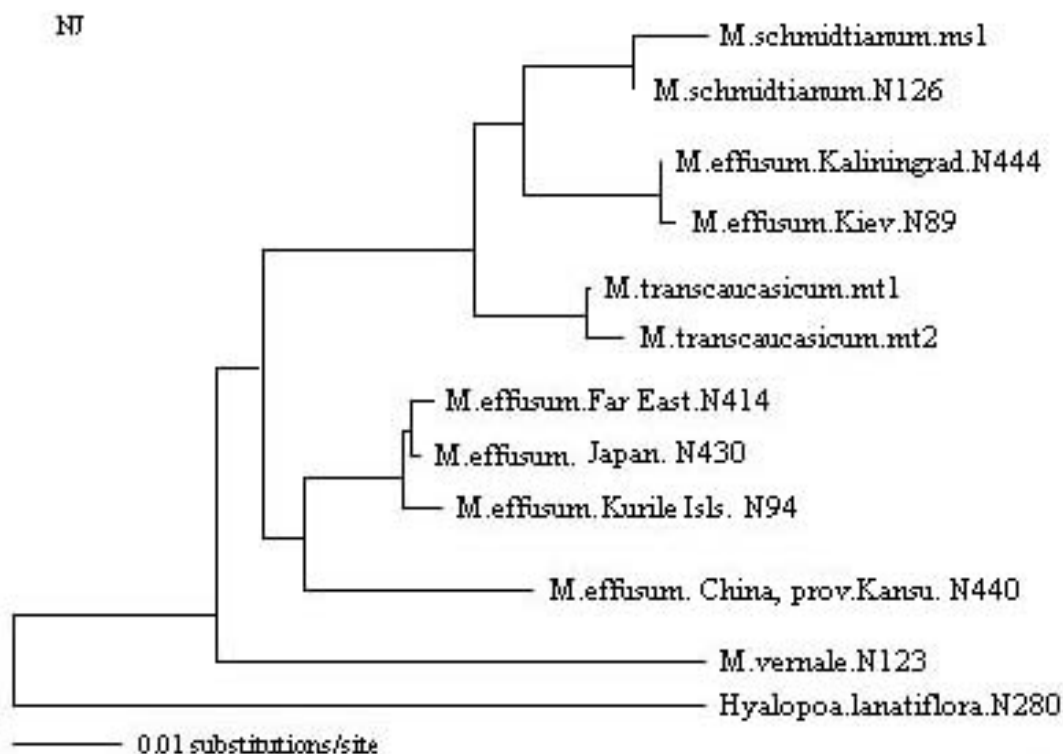


Рис. 2. Древо, демонстрирующее эволюционные взаимоотношения, построенные на основе ITS1-5.8S-ITS2 района рибосомального гена в роде *Milium*.

Наши данные неожиданно выявили значительное отделение клады популяций Восточной Азии от клад со всеми остальными представителями географических зон (рис. 1). Несколько отстоит в этой группе единственный исследованный образец из Западного Китая. Наблюдаемое нами отделение клады – настолько существенное, что мы сочли целесообразным оценить положение данной группы по отношению к другим видам этого рода. Для этого было построено филогенетическое древо с вовлечением в анализ ITS-последовательностей других видов рода *Milium*, секвенированных нами прежде (Probatova et al., 2007). Выяснилось (см. рис. 2), что эта «восточноазиатская», а точнее – амуро-японская группа настолько самостоятельна по ITS-кластеру, что выделяется даже за пределы клады всей типовой секции *Milium* (*M. effusum*, *M. schmidtianum*, *M. transcaucasicum*).

Работа выполнялась при поддержке РФФИ № 06-04-48399, 07-04-00610, Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов» и научно-исследовательских фондов DFG и DAAD (Германия).

Литература

- Пробатова Н. С. Семейство мятликовые, или злаки – *Poaceae* Varnh. // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 1. Л., Наука, 1985. С. 89–382.
 Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Громик С. Л. Кариосистематика рода *Milium* L. и близких родов злаков (*Poaceae*) // Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука, 2000. Вып. 46. С. 105–146.

Селедец В. П., Пробатова Н. С. Экологические шкалы как источник информации об экологии биоразнообразия (на примере злаков Дальнего Востока России) // Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука, 2003. Вып. 49. С. 172 – 212.

Цвелев Н. Н. Злаки СССР. Л.: Наука, 1976. 787 с.

Baldwin B. G. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the *Compositae* // Molecular Phylogenetic and Evolution. 1992. Vol. 1. P. 3–16.

Blattner F. R. Phylogenetic analysis of *Hordeum* (*Poaceae*) as inferred by nuclear rDNA ITS sequences // Molecular Phylogenetic and Evolution. 2004. Vol. 33. P. 289–299.

Hsiao C., Chatterton N.J., Asay, Jensen K.B. K.H. Phylogenetic relationships of the monogenomic species of the wheat tribe, *Triticeae* (*Poacea*), inferred from nuclear rDNA (internal transcribed spacer) sequences // Genome. 1995. Vol. 38. P. 211–223.

Hsiao C., Jacobs S.W.L., Chatterton N.J., Asay K.H. A molecular phylogeny of the grass family (*Poaceae*) based on the sequences of the nuclear ribosomal DNA (ITS) // Australian Systematic Botany. 1999. Vol. 11. P. 667–688.

Probatova N. S., Kotseruba V. V., Murtazaliev R. A., Houben A., Blattner F. R. Phylogeny of the genus *Milium* L. – evidence from nuclear ribosomal DNA ITS sequences // Computational phylogenetics and molecular systematics «CPMS' 2007». Moscow, 2007. P. 256–258.

Swofford D. L. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), version 4. 2002. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

РОДА *QUILLAJA* С ДРУГИМИ ТАКСОНАМИ ПОРЯДКА *FABALES* И *ROSALES* ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЯДЕРНЫХ ITS И РАЙОНОВ *TRNL-TRNF* И *PSBA-TRNH* ГЕНОМА ХЛОРОПЛАСТОВ

Красильников Е.М., Родионов А.В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН

Род *Quillaja* состоит из двух южноамериканских видов *Quillaja brasiliensis* и *Q. saponaria*. *Q. brasiliensis* – бразильский вид, а *Q. saponaria* произрастает в Андах. Положение рода варьирует в классификациях различных авторов. Так в классификации Schulz-Menz (Schulz-Menz, 1964), основанной на характеристиках плода, род *Quillaja* помещен в подсемейство *Spiraeoidea* семейства *Rosaceae*, триба *Quillajaeae*. В системе Камелина (Камелин, 2006) род формирует отдельное подсемейство *Quillajoideae* в семействе *Rosaceae*, в которое помимо рода *Quillaja* автором включаются рода *Kageneckia*, *Vauquelinia*, *Lindleya*, *Exochorda*. Однако, если судить по особенностям древесины (Zhang, 1992) и последовательностям хлоропластного гена *gbcL* (Morgan et al., 1994; APG, 2003) этот род не входит в семейство *Rosaceae*, а является единственным родом семейства *Quillajaceae* в порядке *Fabales*, наряду с малочисленным семейством *Surianaceae* и двумя крупными семействами *Polygalaceae* и *Fabaceae*. Родственные связи вышеперечисленных четырех семейств порядка *Fabales* до сих пор остаются не ясными. Wojciechowski et al. (2004), основываясь на последовательностях гена *matK*, обнаружили близкое родство семейств *Quillajaceae* и *Surianaceae*.

Задачей нашего исследования было определить филогенетические отношения рода *Quillaja* с другими таксонами, используя последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 ядерных генов рРНК, а также участки хлоропластной ДНК *trnL-trnF* и *psbA-trnH*. Секвенированные нами последовательности обоих видов рода *Quillaja* и других видов, а также последовательности, взятые из базы данных NCBI, были использованы для построения филогенетического дерева в программе Mega 4.0 (Tamura et al., 2007). В результате сравнения последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 ядерных рДНК (рис. 1) выявляется родство рода *Quillaja* с семейством *Fabaceae*, а именно с трибой *Detarieae* подсемейства *Caesalpinioideae*. Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям хлоропластного гена белка фотосистемы 2 *psbA* также указывает на родство рода *Quillaja* с трибой *Detarieae* (рис. 2). Триба *Detarieae* подсемейства *Caesalpinioideae* самая примитивная группа в сем. *Fabaceae* (Wojciechowski et al. 2004). В эволюции этой группы наблюдается тенденция от актиноморфности цветка к зигоморфности. Род *Quillaja* с актиноморфными пентамерными цветками является группой, сестринской к стоящей в основании сем. *Fabaceae* трибе *Detarieae*.

Работа финансировалась из средств гранта РФФИ 06-04-48399 и программы «Динамика генофондов».

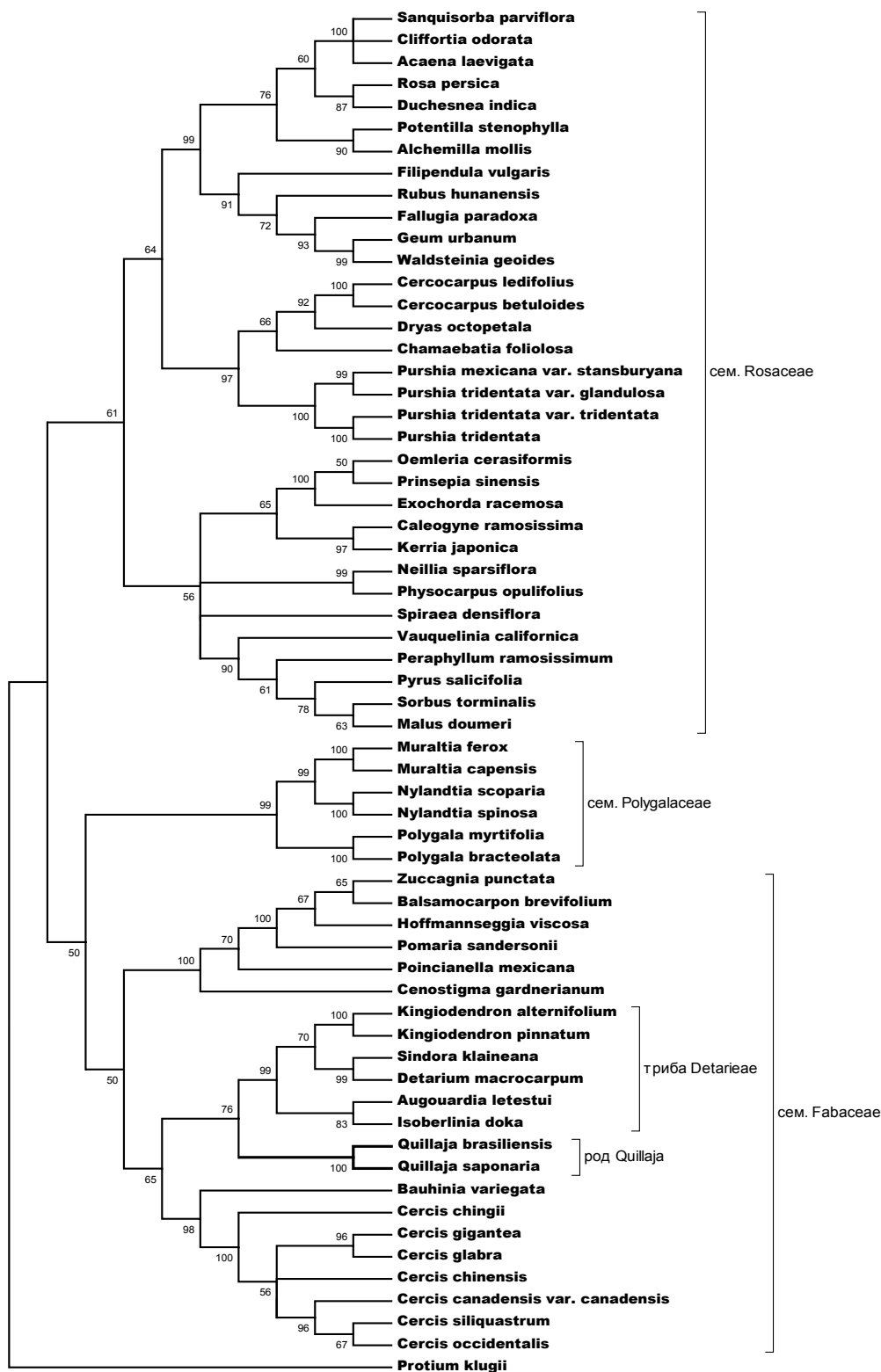


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям ITS1 и 2.

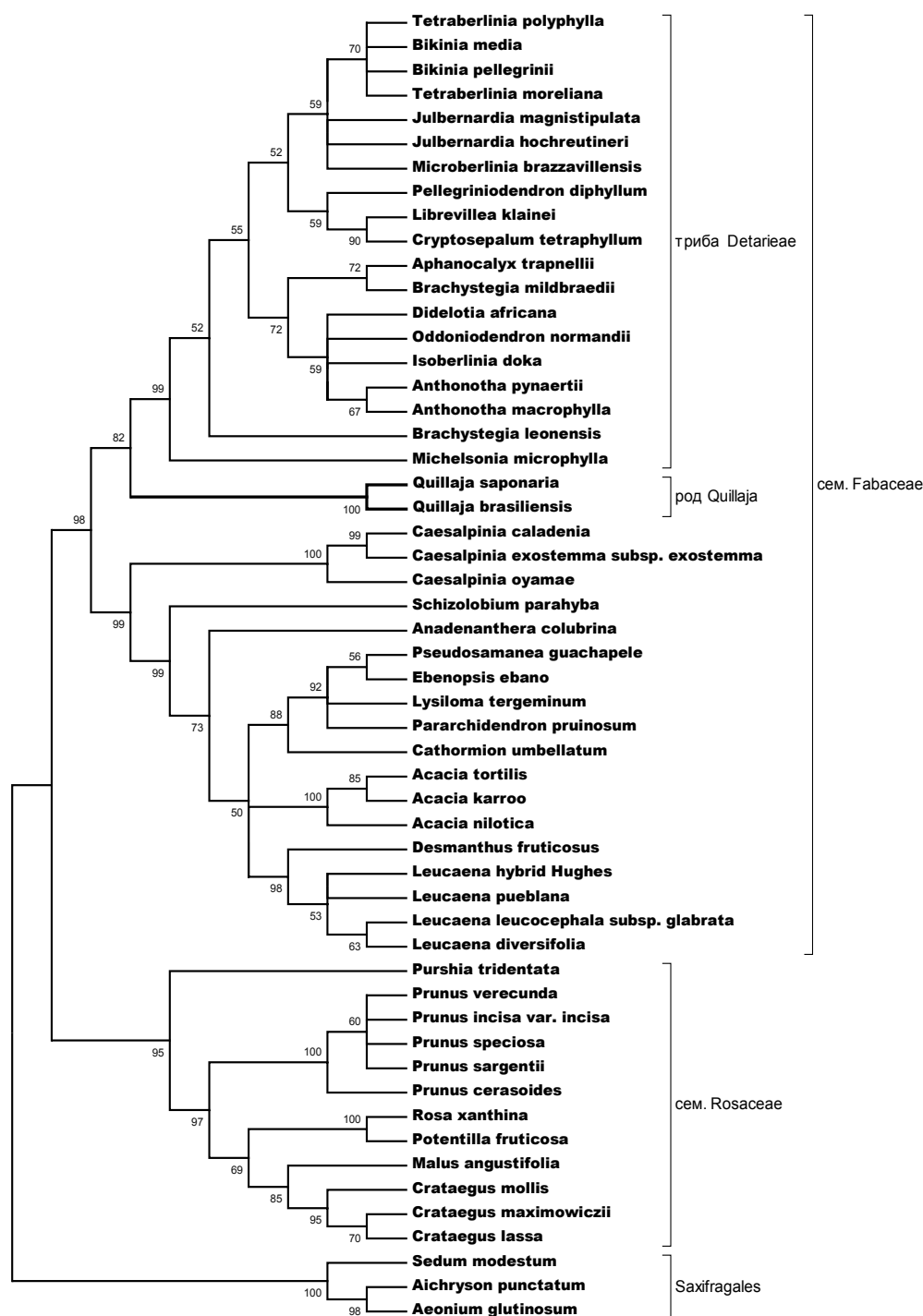


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям *psbA-trnH*.

Литература

- Камелин П.В. Розоцветные (Rosaceae) // Барнаул: Алтайские страницы. 2006. – 100 с.
 APG. An update of the APG classification for the orders and families of flowering plants // Botanical Journal of the Linnean Society. 2003. Vol. 141. P. 399–436.
 Morgan D.R., Soltis D.E., Robertson K.R. Systematic and evolutionary implications of *rbcL* sequence variation in *Rosaceae* // Amer. J. Botany. 1994. Vol. 81. P. 890 – 903.
 Schultz-Menz G.K. *Rosaceae* // Gebruder Borntraeger, Berlin. 1964. P. 209–218.

Tamura K, Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // Molecular Biology and Evolution. 2007. Vol. 24. P. 1596–1599.

Wojciechowski M.F., Lavin M., Sanderson M.J. A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *mTK* gene resolves many well-supported subclades within the family // Amer. J. Botany. 2004. Vol. 91. P. 1846–1862.

Zhang S.Y. Systematic wood anatomy of the *Rosaceae* // Blumea. 1992. Vol. 37. P. 81–158

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОДРОДА *ESULA* РОДА *EUPHORBIA* (*EUPHORBIACEAE*)

Крюков А. А., Гельтман Д. В., Родионов А. В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

Род *Euphorbia* L. (*Euphorbiaceae*) насчитывает около 2000 видов, имеющих характерное специализированное соцветие — циатий. Первый и единственный на сегодняшний день обзор рода в полном объеме выполнил Буасье (Boissier, 1862), который отнёс к нему 723 вида, разделив их на 27 секций. Позднее Уиллер (Wheeler, 1943) предложил делить род *Euphorbia* на 8 подродов, выделяя в их пределах ряд секций. Существенный вклад в построение системы рода внёс Я. И. Проханов (1949, 1964) подготовивший его обработку для «Флоры СССР». В настоящее время род *Euphorbia* делят на 9–11 подродов, один из которых, изучаемый нами подрод *Esula* Pers., содержит не менее 350 видов. Его система неоднократно менялась; недавно Д. В. Гельтман (2007) на основании морфологических данных отнес евразийские виды этого подрода к 10 секциям.

На основании молекулярных данных по последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ядерной рРНК (ITS) и хлоропластным генам (Bruyns et al., 2006), было предложено разделить род *Euphorbia* на 4 подрода (*Rhizanthium* (Boiss.) Wheeler, *Chamaesyce* Raf., *Euphorbia*, *Esula*), поскольку все исследованные виды (более 200 видов из всех принимаемых в настоящее время подродов) распределились в 4 хорошо поддерживаемые клады. Эти клады оказались сборными из видов различных ранее выделяемых подродов. Изучаемый нами подрод *Esula* попал в одну и ту же кладу вместе с южноафриканскими видами, ранее относимыми к подроду *Tirucalli* (Boiss.) S. Carter.

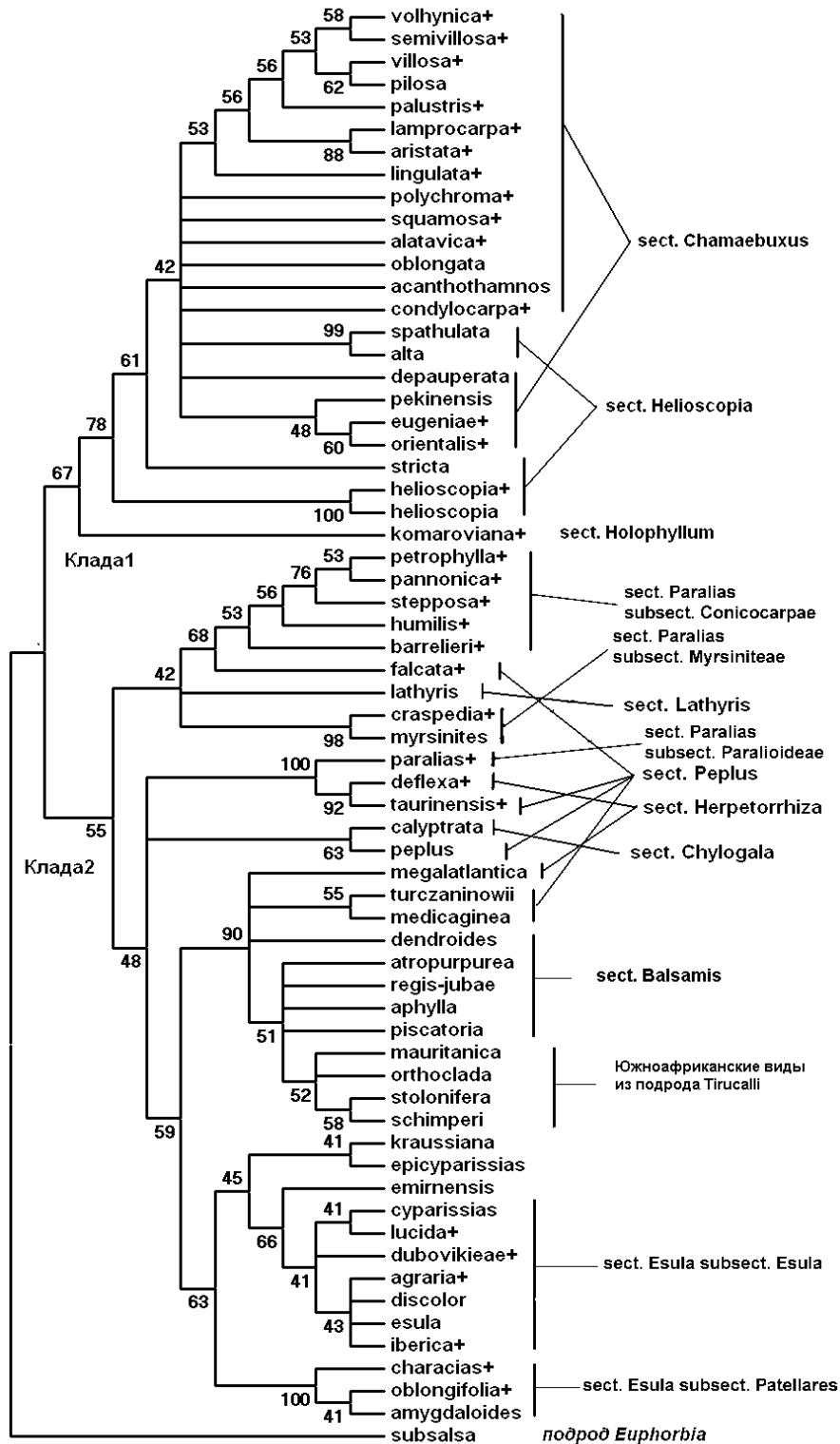
Для исследования молекулярной филогении (геносистематики) подрода *Esula* нами выбраны наиболее используемые на внутривидовом уровне ITS последовательности. В роде *Euphorbia* подрод *Esula* пока наименее изучен молекулярными методами. В базах данных на сегодняшний день имеются последовательности ITS приблизительно 30 видов этого подрода, а последовательности митохондриальных и хлоропластных генов практически отсутствуют.

Нами секвенированы ITS-последовательности 32 видов из подрода *Esula*. На рис. 1 показано филогенетическое древо, построенное на основании молекулярных данных по ITS2 с использованием метода ближайших соседей (NJ). Виды, данные по которым были получены нами, на рисунке помечены знаком +; сведения по остальным видам взяты из базы данных «Генбанк». За внешнюю группу взят вид из подрода *Euphorbia* — *E. subsalsa* Hiern.

На построенном нами древе хорошо выделяются две клады (1, 2), каждая из которых содержит виды из родственных секций. В пределах клады 1 оказались виды из секций *Chamaebuxus* Lázaro, *Helioscopia* Dumort. и *Holophyllum* (Prokh.) Prokh. Если единственный исследованный вид из последней секции довольно убедительно выделился в отдельную субкладу, то виды секции *Helioscopia* (однолетники) оказались в различных субкладах среди более многочисленных многолетников из секции *Chamaebuxus*. Эти данные могут служить аргументом в пользу объединения этих секций под приоритетным названием *Helioscopia*, что было сделано в свое время Прохановым (1964).

Клада 2 также разделяется на несколько субклад. Некоторые субклады и их «конечные ветви», имеющие высокую поддержку, почти полностью соответствуют отдельным секциям и подсекциям. Так, довольно высокую поддержку (63%) получила секция *Esula* Dumort., а *E. amygdalioides* L., *E. characias* L. и *E. oblongifolia* (K. Koch) K. Koch, относящиеся к ее подсекции *Patellares* (Prokh.) Prokh., объединились в ветвь с поддержкой 100%. В эту же субкладу попали мадагаскарский вид *E. emirnensis* Baker, а также южноафриканские *E. kraussiana* Bernh. ex Krauss. и *E. epicyparissias* (E. Mey. ex Klotzsch et Garcke) Boiss., секционная принадлежность которых пока не вполне ясна, хотя они вне сомнения принадлежат к подроду *Esula*.

С не очень высокой поддержкой (42%) оказались объединены в субкладу виды подсекций *Conicocarphae* (Prokh.) Prokh. и *Myrsiniteae* Boiss. секции *Paralias* Dumort.; правда, в эту же субкладу попали и отдельные виды из других секций. Вместе с тем конечные ветви, соответствующие собственно этим подсекциям, имеют более высокую поддержку — 53% и 98% соответственно. *E. paralias* L., относимый к монотипной подсекции *Paralioidae* Prokh. секции *Paralias*, с высокой поддержкой оказался в одной ветви вместе с видами из других секций; общим у них оказывается географическое распространение.



Консенсусное филогенетическое дерево, полученное с помощью метода ближайших соседей (NJ) на данных по последовательностям ITS2, показывает распределение видов подрода *Esula* в две крупные клады с бутстрэп – индексами поддержки 67 и 55 (бутстрэп-индексы показаны выше или ниже ветвеваний дерева (показаны только те, что выше 40; бутстрэп-индекс равный 100 будет обозначать 100 процентную достоверность выделения ветви дерева и объединение видов внутри этой ветви в одну группу). На рисунке подписаны названия секций и подсекций, к которым относятся исследуемые виды.

В наибольшей степени противоречия между морфолого-географическим и молекулярным подходом выявились при анализе секции *Peplus* Lázaro, виды которой оказались в различных субкладах и ветвях клады 2. К этой секции, согласно морфологическому подходу, отнесены однолетние виды, имеющими самую различную, иногда довольно причудливую, структуру поверхности семян. Полученные молекулярно-филогенетические данные дают основание считать, что переход к однолетней жизненной форме мог происходить неоднократно в разных эволюционных линиях подрода *Esula*; систематика именно этой секции нуждается в наиболее серьезном пересмотре. Также в разных субкладах и ветвях оказались и виды секции *Herpetorrhiza* (Prokh.) Prokh.

Довольно хорошую поддержку получила секция *Balsamis* Webb et Berthelot, к которой относятся кустарниковые и древесные виды, имеющие тенденцию к суккулентности, распространенные в основном на Канарских островах и в Средиземноморье. Интересно, что с этими видами группируются как однолетники и многолетники, относимые к секциям *Peplus* и *Herpetorrhiza*, так и группа южноафриканских суккулентных видов, обычно относимых к подроду *Tirucalli*. Эти данные могут свидетельствовать в пользу пересмотра объема подрода *Esula*, а также того, что переход к суккулентности в роде *Euphorbia* (подобно к переходу к однолетней жизненной форме) мог происходить неоднократно в различных эволюционных ветвях.

Таким образом, наши данные подтверждают обоснованность выделения лишь части внутривидовых таксонов подрода *Esula*. Систематика тех секций, которые оказались полифилитическими, нуждается в пересмотре, тем более что для этого есть и определенные морфологические и ботанико-географические основания. Возможно, требуется и пересмотр объема подрода *Esula*.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 04-04-48758, 06-04-48399, 07-04-00848) и программы Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

Литература

- Гельман Д. В. Конспект системы подрода *Esula* Pers. рода *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) внетропической Евразии // Новости систематики высших растений. СПб., 2007. Т. 39. С. 224–240.
- Проханов Я. И. Род молочай — *Euphorbia* L. // Флора СССР. М.; Л., 1949. Т. 14. С. 304–495.
- Проханов Я. И. Конспект системы молочаев СССР. Добавления и изменения // Новости систематики высших растений. Л., 1964. С. 226–237.
- Boissier E. *Euphorbiaceae* — *Euphorbieae* // Candolle A. P. de Prodrum systematis naturalis regni vegetabilis. Parisiis, 1862. Pars 15. Sect. 2. P. 3–188.
- Bruyns P. V., Mapaya R. J., Hedderston T. A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and psbA-trnH sequence data // Taxon, 2006. Vol. 55, N 2. P. 397–420.
- Wheeler L. C. The genera of living *Euphorbieae* // Amer. Midland Natur., 1943. Vol. 30, N 2. P. 456–503.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ВОПРОСОВ СИСТЕМАТИКИ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ АКТИНИДИИ

Малаева Е.В.¹, Кочиева Е.З.², Рыжова Н.Н.², Коновалова Л.Н.³, Молканова О.И.³

¹Волгоград, ГУ «Волгоградский региональный ботанический сад», e-mail: e.malaeva@mail.ru

²Центр «Биоинженерия» Российской академии наук gynatalia@yandex.ru

³Москва, Главный ботанический сад им. Н.В.Цицина РАН, molkanova@mail.ru

Актинидия (род *Actinidia* Lindley., семейство *Actinidiaceae* Van-Tieghem.) представляет собой крайне интересную, но мало изученную культуру, как в ботаническом, так и в генетическом плане. Прежде всего, актинидия интересна тем, что ягоды растений этого рода содержат большое количество биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами и являются ценным источником витаминов, кахетинов, пектинов, дубильных и красящих веществ, флавоноидов, алкалоидов и многих других соединений (Колбасина Э.И., 2000). По своему лечебному спектру эта культура способна вытеснить многие медицинские препараты химического синтеза.

По данным различных классификаций выделяют от 40 до 62 видов актинидии (Dunn, 1911, Li, 1952, Liang, 1983, Cui et al., 2002). Большинство из них – многолетние дикорастущие лианы субтропических и тропических лесов Юго-восточной Азии. Ареал проходит от 52° с. ш. до 8° ю. д. Центром происхождения и разнообразия считается Китай (Huang et al., 2002). Наиболее распространенными видами являются *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim., *A. arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. Mig., и *A. chinensis* Planch. (киви). Остальные виды характеризуются ограниченным ареалом. (Liang, 1983).

Согласно последнему обзору было выделено 62 вида актинидии (Cui et al., 2002). Виды были объединены во внутривидовые секции (Cui et al., 2002). В настоящее время на основании строения плода авторы выделяют 4 секции: *Leiocarpae*, *Maculatae*, *Stellatae*, и *Strigosae* (Cui et al., 2002, Колбасина Э.И., 1994, 1996, 2000). Однако всеми систематиками указывается, что таксономия и оценка филогенетического родства видов из-за

расплывчатости межвидовых границ, широкой вариабельности морфологических признаков, и существования промежуточных, по всей видимости, гибридных форм, весьма сложна (Ferguson, 1990, Huang et al, 2002).

Виды *A. kolomikta*, *A. arguta* и *A. polygama* относят к секции *Leiocarpae*. При этом *A. kolomikta* и *A. arguta* принято относить к серии *Lamellatae*, *A. polygama* к серии *Solidae*. Таксономический статус *A. giraldii* и *A. purpurea* окончательно не определен. Согласно ряду классификации *A. giraldii* рассматривается как синоним *A. arguta*, или же ее разновидность *Actinidia arguta* (Siebold & Zucc.) Planch. ex Miq. var. *giraldii* (Diels) Vorosch. (<http://www.plantnames.unimelb.edu.au/Sorting/Actinidia.html>). По данным Д.П. Воробьева (1968) этот таксон имеет характерные отличия от *Actinidia arguta* (Siebold & Zucc.) Planch. ex Miq. и приводится как *Actinidia giraldii* Diels во «Флоре СССР» (1949), в работе С.С. Харкевича, Н.Н. Качуры (1981).

Таким образом, систематика рода *Actinidia* является неоднозначной и требует уточнения.

Помимо вопросов связанных с систематикой таксонов рода *Actinidia*, отдельный интерес представляет определение внутривидового и межсортового полиморфизма видов, произрастающих на территории России, как с целью возможного исследования границ видов, так и для оценки генетической основы образцов (как дикорастущих, так и отечественных сортов) в прикладных целях селекции.

В настоящее время для определения уровня геномного полиморфизма, межвидовой и внутривидовой вариабельности, установления таксономического статуса отдельных образцов и выявления филогенетических отношений различных таксонов широко используются молекулярные методы анализа генома, в том числе RAPD метод, основанный на случайной амплификации полиморфных фрагментов геномной ДНК (Williams et al., 1990).

Таким образом, целью данной работы стал RAPD анализ межвидового, внутривидового полиморфизма ядерного генома видов рода *Actinidia*, произрастающих на территории России.

Для работы из коллекции Московского отделения ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (п. Михнево, Московской области) были отобраны 47 образцов представителей рода *Actinidia*, относящиеся к 5 видам и исходно собранные на территории Дальнего Востока России.

Выделение тотальной растительной ДНК из молодых листьев индивидуальных растений производили согласно стандартному протоколу (Edwards, Johnston, 1991) с дополнительной очисткой образцов смесью фенол/хлороформ. В работе были использованы стандартные олигонуклеотидные RAPD-праймеры серий OPD, OPN, OPK, OPH. («Operon Technologies» Alameda, California, USA). Для полимеразной цепной реакции были использованы наборы реактивов производства «Диалат-ЛТД» (Москва). Амплификацию ДНК проводили по стандартной методике (Williams et al., 1990).

Продукты реакции амплификации разделяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1хTBE буфере, с последующим окрашиванием бромистым этидием. В статистический анализ были включены только четкие, воспроизводимые фрагменты.

Статистический анализ проводился при помощи пакетов программ STATISTICA 6.0 и TREECON (Van de Peer, Y., R. De Wachter, R., 1994) Уровень геномной вариабельности оценивался по значениям генетических расстояний (GD). Межвидовые и внутривидовые генетические расстояния определялись с использованием коэффициента Жаккарда. Дальнейший кластерный анализ проводился методом UPGMA (Sneath, Sokal, 1973). Индексы бутстрепа (ИБ) рассчитывались для 1000 реплик.

В работу были отобраны 47 представителей рода *Actinidia*, среди которых 20 образцов/сортов вида *A. kolomikta*, 8 – *A. arguta*, 8 – *A. polygama*, а также 4 образца *A. giraldii*, 1 – *A. purpurea* и 4 – гибридные формы *A. arguta* x *A. purpurea*.

Из 32 RAPD-праймеров (серий OPD, OPN, OPK, OPH) предварительно протестированных на ограниченном наборе образцов, были отобраны девять праймеров (OPK₉, OPK₄, OPN₁₅, OPN₃, OPN₁₉, OPD₆, OPH₃, OPH₈, OPH₉), позволяющих получать наиболее полиморфные и высоко воспроизводимые спектры RAPD-фрагментов генома рода *Actinidia*.

Использование этих девяти RAPD-праймеров, приводило к амплификации 382 RAPD-фрагментов, из которых 362 (95%) были полиморфными. Для каждого взятого в анализ образца были получены уникальные RAPD-спектры фрагментов ДНК. Размер фрагментов варьировал от 200 до 2600 н.п. Максимальное и минимальное число полиморфных фрагментов на праймер составило 78 (праймер OPD₆) и 43 (праймер OPK₄).

Необходимо отметить, что выбранные для маркирования видов актинидии праймеры отличались по степени выявления полиморфизма у исследуемых видов. Так, для *A. kolomikta* уровень полиморфизма, детектированный с помощью праймера OPK₄ составлял 95%, для *A. arguta* – 97%, в то время как для праймера OPN₃ – 86% и 81% соответственно. *A. polygama* отличалась относительно низким уровнем полиморфизма, так праймер OPD₆ приводил к амплификации 78% полиморфных фрагментов генома представителей этого вида, а OPK₄ – 80% полиморфных фрагментов.

После статистической обработки всего массива данных были рассчитаны матрицы попарных генетических расстояний. Диапазон генетических различий взятых в анализ представителей видов рода *Actinidia* варьировал в пределах от 0,01 до 0,40. При этом представители вида *A. kolomikta* показали наибольшую степень геномной вариабельности (0,01–0,15). Наименьшим уровнем полиморфизма характеризовались представители ви-

да *A. polygama* (0,02–0,07), что однако может быть связано с размерами выборки. Образцы видов *A. arguta* и *A. giraldii* характеризовались индексами генетических различий: 0,05–0,12 и 0,07–0,10, соответственно.

Наибольшую степень несходства (различий) показали виды *A. kolomikta* и *A. arguta* (0,29–0,40). Интересно отметить, что межвидовые генетические различия в парах *A. giraldii* – *A. arguta* и *A. purpurea* – *A. arguta* составили 0,06–0,14 и 0,08–0,12, что сравнимо с внутривидовым разнообразием *A. arguta* (0,05–0,12) или гибридных сортов *Actinidia arguta* x *A. purpurea* (0,06–0,14). Диапазон генетических различий для образцов всей группы *A. arguta*, *A. giraldii*, *A. purpurea* и *A. arguta* x *A. purpurea* (0,05–0,14) также находился с этих пределах и не достигал выявленных коэффициентов межвидовых генетических различий (0,27–0,40), что скорее опровергает самостоятельный видовой статус *A. giraldii* и *A. purpurea* и предполагает рассмотрение данных таксонов в ранге разновидностей *A. arguta*. Что касается внутривидового полиморфизма, *A. polygama* и *A. arguta*, то анализ с использованием такого количества образцов проводится практически впервые. Ранее были проведены работы по выявлению сортового полиморфизма *A. kolomikta* литовской селекции (Eesoniene, Daubaras, Gelvonauskis, 2005).

Кластерный анализ исследованных образцов выявили четкую видовую дифференциацию *A. kolomikta*, *A. polygama* и *A. arguta*. Кластеры всех трех видов поддерживались максимальными значениями бутстрепа на дендрограмме и соответствовали трем четко обособленным компактным группам видов актинидии. Отдельный интерес представляло определение таксономического статуса *A. giraldii*, *A. purpurea*. Сорта и образцы *A. giraldii*, *A. purpurea*, а также гибриды *A. arguta* x *A. purpurea* формировали общий кластер с *A. arguta*, при этом однако не смешиваясь с образцами *A. arguta* и друг другом, образуя отдельные подкластеры, однако, слабо поддерживающиеся значениями бутстрепа. Исключение составил сорт Бальзамная вида *A. arguta*, образовавшего общую кладу с сортом *A. giraldii* Туземка. Однако такое разделение на группы внутри кластера *A. Arguta*, скорее всего связано не только с разделением *A. arguta* на разновидности, но и с различным происхождением анализированных сортов и образцов. Гибридные сорта *A. arguta* x *A. purpurea* и сорт Садовая *A. purpurea* были исходно украинской селекции и весьма вероятно имеет общую родословную. Образцы *A. giraldii* и сорт Туземка получены из Приморского края. Схожая картина географической и селекционной приуроченности наблюдалась для сортов *A. kolomikta*: отдельные группы формировали образцы из Сахалина, Владивостока и европейской части России (Москва, Подмосковье, Санкт-Петербург). Бутстреп поддержки этих групп, однако, были не высоки (менее 50%).

Таким образом, в результате проведенного анализа впервые установлены уровни геномного разнообразия наиболее распространенных на территории России видов актинидии *A. kolomikta*, *A. arguta*, *A. polygama*, которые составили 0,01–0,15, 0,05–0,12 и 0,02–0,07, соответственно. Оценен уровень межвидовых различий, максимальное значение которого соответствовало образцам *A. kolomikta* и *A. arguta* (0,29–0,40). Впервые с использованием молекулярных маркеров получены данные, поддерживающие подвидовой статус таксонов *A. giraldii* и *A. purpurea*. Подобраны праймеры, которые могут быть рекомендованы для оценки как внутривидового полиморфизма того или иного вида, так и межвидового разнообразия актинидии. Показана внутривидовая дифференциация образцов киви, связанная с происхождением и географией взятых в анализ образцов и сортов рода.

Литература

- Воробьев Д.П. Декоративные деревья и кустарники Дальнего Востока. Л.: Наука. 1968. 227 с.
- Денисов Н.И. Бюллетень Ботанического сада института ДВО РАН. 2007. Вып. 1 (1) С. 44–50.
- Колбасина Э.И. Актинидии и лимонник в России. М., 2000. 264с.
- Флора СССР. М.–Л.: АН СССР. 1937. Т. 7. С. 566–567.
- Харкевич С.С., Качура Н.Н. Редкие виды растений Дальнего Востока и их охрана. М.: Наука, 1981. 231 с.
- Dunn S.T. A revision of the genus *Actinidia* Lindl. J. Linn. Soc. Lond. Bot. 1911. 39 P.394–410.
- Edwards S.K., Johonstone C., Thompson Simpl and rapid method for the preparation of plnt genomic DNA for PCR analysis Nucleic Acids Res 19(6) 1349.
- Eesoniene L., Daubaras R, Gelvonauskis B. Characterization of kolomikta kiwi (*Actinidia kolomikta*) genetic diversity by RAPD fingerprinting// Biologija. 2005. № 3. P. 1–5.
- Ferguson A.R., and Bollard E.G. Domestication of the kiwifruit. 1990. P.165–246.
- Huang H. et al Phylogenetic Relationships in *Actinidia* as Revealed by RAPD Analysis// J. Amer. Soc. Hort. Sci. 2002. 127 (5). P.759–766.
- Liang C.-F. On the distribution of *Actinidia*. Guihaia 1983 3. P.229–248.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. Numerical taxonomy — the principles and practice of numerical classification. 1973.
- Van de Peer. Y., and R. De Wachter. R. (1994) TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary for the Microsoft Windows environment. Comput. Appl. Biosci. 10: 569–570.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.L., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 1990 V. 18. № 22. P. 6531–6535.

О МОЛЕКУЛЯРНОМ И МОРФОЛОГИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ ВИДОВ РОДА *GALEOPSIS* (LAMIACEAE) В ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

Маслова Е.В.

Белгород, Белгородский государственный университет

Род *Galeopsis* L. содержит два подрода (*Galeopsis* и *Ladanum* (S.F. Gray) Reichenb.), из которых 7 видов встречаются во флоре России (Тюнникова, 2006). Подрод *Galeopsis* включает пять видов, три из которых (*G. bifida*, *G. tetrahit* и *G. pernhofferi*) являются возможными гибридами диплоидных видов *G. speciosa* и *G. pubescens*. *G. pernhofferi* распространен на территории Сибири и в европейскую часть России не заходит, *G. bifida* и *G. tetrahit* встречаются в пределах восточно-европейской части России, только второй из них более редок в черноземной полосе.

Нами в период 2003–2004 гг. были изучены 13 выборок из природных популяций *G. bifida* и *G. tetrahit* из Белгородской и Московской областей. Для установления четких различий видов, которые многие систематики часто путают и не принимают за два «хороших» вида, был проведен молекулярный и морфологический анализ.

Отбор образцов для анализа ДНК производился так, чтобы в равной степени, по 7 образцов, были представлены *G. bifida* и *G. tetrahit*. Поскольку, последний вид в данных областях более редок, часть образцов была взята из Гербария Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА).

В результате проведенного молекулярного исследования с использованием 4 ISSR- и 2 RAPD-маркеров получено 57 ISSR- и 28 RAPD-фрагментов, позволивших четко разделить изученные образцы на две группы.

Результаты молекулярного анализа представлены в виде дендрограммы, построенной методом объединения соседей (NJ) (рис. 1).

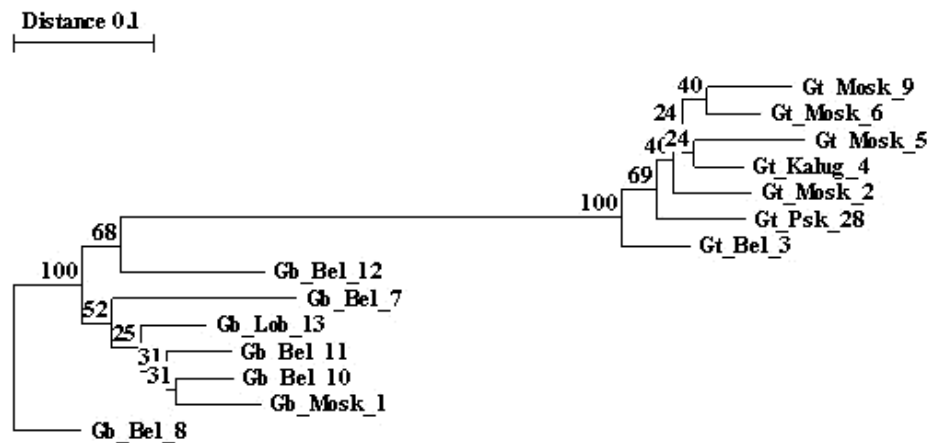


Рис. 1. Дендрограмма различий между 14 образцами представителей *Galeopsis bifida* и *G. tetrahit*, построенные NJ-методом по данным RAPD и ISSR анализов.

Обозначения: Gb – *G. bifida*, Gt – *G. tetrahit*.

Дискриминантный анализ, выполненный в программе STATISTICA 6.0. традиционных признаков, использующихся ранее в ключах различных авторов, не дал четкого обособления исследуемых образцов. Анализ, проведенный с включением всех признаков и ранее используемых и предлагавшихся в качестве диагностических показал, что вся совокупность образцов из популяций распадается на две группы, соответствующих *G. bifida* и *G. tetrahit* (рис. 2).

Анализ по методу объединения соседей (рис. 1) выявил два четко различающихся кластера (поддержка бутстрепа 100%), один из которых включает только образцы *G. bifida*, второй – только *G. tetrahit*. Внутривидовые группировки не имеют дифференциации с высокой поддержкой бутстрепа. Этот факт свидетельствует в пользу отсутствия выраженной географической подразделенности в пределах *G. bifida* и *G. tetrahit* и самостоятельности существования этих двух видов.

Параллельно был проведен морфологический анализ, в который было включено 25 качественных и количественных признаков, из них 12 использовались ранее в качестве диагностических разными авторами (Юзепчук, 1954; Борисова, 1964; Гладкова, 1978; Губанов и др., 2004; Казакова, 2006) (форма средней лопасти и его дистального края, ширина средней лопасти и характер расположения на ней ри-

сунка, наличие пурпурного пятна в дистальной и центральной частях средней лопасти, наличие желтого пятна в проксимальной части средней лопасти, форма оснований и зубцов листьев, длина зубцов и опушение чашечки, характер опушения стеблей простыми и железистыми волосками), а остальные предлагаются нами впервые (ширина трубки венчика в области зева, форма контура дистального края средней лопасти, ширина средней и боковой лопасти, форма боковой лопасти, форма края боковой лопасти, обращенный к средней доле и наружного дистального края, характер сетчатости рисунка средней лопасти, размер и форма апофиз, V-образное углубление в области зева при соединении апофиз в их основании и др.). С целью поиска новых, диагностически значимых признаков было изучено более 3000 фотографий, сделанных в природе с помощью цифровых фотоаппаратов (Minolta Dimage Z1 в режиме супер макросъемки и Nikon coolpix 4500, присоединяющегося к стереомикроскопу МБС 1). Измерения отдельных структур венчика осуществляли на разваренном гербарном материале с помощью окуляр-микрометра в стереомикроскопе МБС 1. Изучение остальных вегетативных признаков проводили на изготовленных гербарных образцах, с уточнением отдельных признаков на цифровых фотографиях.

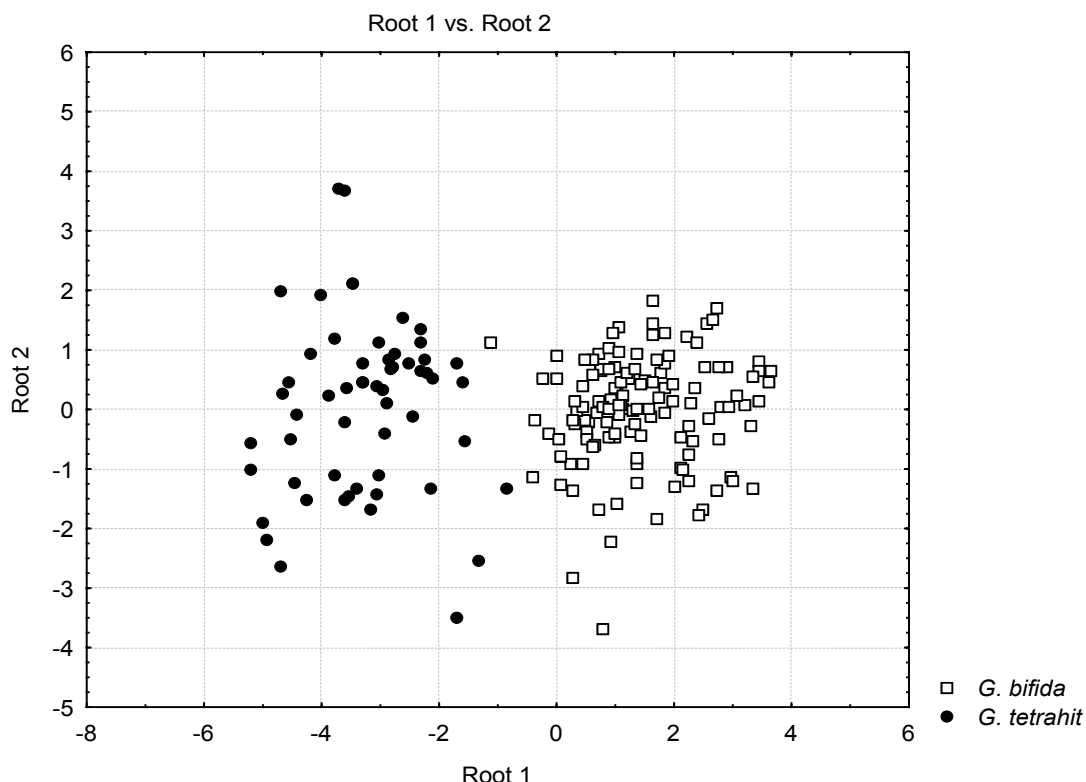


Рис. 2. Результаты анализа морфологических признаков *Galeopsis tetrahit* и *G. bifida* методом дискриминантного анализа с исполнением канонического анализа в программе STATISTICA 6.0.

Из анализируемых 25 морфологических признаков 6 являются мономорфными, присутствуют у всех образцов либо первого, либо второго вида, остальные 19 – полиморфные.

Анализируемые образцы этих видов четко отличаются друг от друга по ширине трубки венчика в области зева, форме средней лопасти, форме и контуру дистального края средней лопасти, форме боковой лопасти и ее дистального края, по характеру расположения рисунка на средней доле, и его отдельных частей. Остальные признаки, включая и признаки вегетативной сферы являются перекрывающимися для *G. bifida* и *G. tetrahit*.

Таким образом, наши молекулярные и морфологические данные говорят в пользу того, что *G. bifida* и *G. tetrahit* представляют собой обособленные виды.

Трудность при определении этих видов, а также тот факт, что большинство признаков перекрываются объясняется возможной гибридогенной природой происхождения *G. bifida* и *G. tetrahit*. По данным А. Muntzing (1930), родителями *G. bifida* и *G. tetrahit* являются *G. speciosa* и *G. pubescens*. Все четыре вида широко распространены в западной Европе, где в местах совместного произрастания вероятно и произошли процессы гибридизации.

В восточно-европейской России один из родителей – *G. pubescens* – встречается редко, только на северо-западе и западе, второй – *G. speciosa* – не заходит в южные районы, а именно в Белгородскую область, где распространены *G. bifida* и *G. tetrahit*.

Летом 2007 г. были проведены исследования в популяциях из Калужской и Смоленской областей. В предварительный морфологический анализ включены три вида *G. bifida*, *G. tetrahit* и *G. speciosa*, которые в этих областях обычно встречались рядом. Как показал сравнительный анализ диагностических признаков, *G. speciosa* имеет часть признаков, которые его сближают с *G. tetrahit* – это такие признаки как: дистальный край средней лопасти без выемки; контур дистального края средней лопасти мелко волнисто-зубчатый, продольные вертикальные линии рисунка венчика средней лопасти занимают 2/3 средней лопасти и расположены только в проксимальной и центральной частях; присутствует V-образное углубления в области зева при соединении апофиз в их основании. *G. bifida* схож с *G. speciosa* по характеру расположения рисунка на средней доле (занимает всю среднюю долю) и по наличию пурпурного пятна в дистальной и центральной частях средней лопасти. Все остальные признаки были обнаружены с различной частотой у всех трех видов.

Дальнейшее проведение молекулярного анализа, возможно, более четко прояснит ситуацию гибридного происхождения *G. bifida* и *G. tetrahit*. Применение ДНК-маркеров в систематически трудных группах позволяет внести ясность и подобрать новые доступные морфологические признаки, используя цифровые технологии в определении видов.

Литература

- Борисова А.Г. Пикульник – *Galeopsis* L. // Флора средней полосы европейской части СССР. 9 изд. 1964. С. 492–493.
 Гладкова В.Н. Губоцветные – Lamiales Lindl. // Флора европейской части СССР. Т. 3. 1978. С. 124–209.
 Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. М.: Т-во научных изданий КМК, 2004. Т. 3. 520 с.
 Казакова М.В. Губоцветные – Labiales Juss. // Флора средней полосы европейской части России. 10 изд. 2006. С. 429–443.
 Тюнникова Н.В. Об объеме рода *Galeopsis* L. (Lamiales) // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 2. С. 290–296.
 Юзепчук С.В. Пикульник – *Galeopsis* L. // Флора СССР. Т. 21. 1954. С. 111–124.
 Müntzing A. Outlines to a genetic monograph of the genus *Galeopsis* // Hereditas. 1930. 13. P. 185–341.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ITS НЕКОТОРЫХ ОСТРОЛОДОЧНИКОВ КРАЙНЕГО СЕВЕРА

Михайлова Ю.В., Мачс Э.М., Родионов А.В., Разживин В.Ю.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН

Род *Oxytropis* DC. насчитывает около 350 видов и подвидов, из которых 64 встречаются в Арктике. Его представители распространены в умеренных, холодно-умеренных и холодных областях северного полушария. Арктические остролодочники относятся к под родам *Phacoxytropis* и *Oxytropis*, причем первый представлен в Арктике только одним видом *Oxytropis deflexa* с тремя подвидами. В подрод *Oxytropis* входят секции *Arctobia*, *Orobia*, *Baicalia* и *Glaeocephala* (Юрцев, 1986). В роде много видов субэндемичных и эндемичных для разных частей Арктики, отсутствуют виды с циркумполярным распространением, более того, для остролодочников с прерывистым ареалом характерна высокая межпопуляционная изменчивость (Yurtsev, 1999). Монограф остролодочников Б.А. Юрцев предложил несколько путей видообразования в роде *Oxytropis* (Yursev, 1997, 1999). Одним из главных механизмов, лежащих в основе этого процесса, является географическая изоляция, другим – полиплоидизация, особенно распространённая в секциях *Orobia*, *Baicalia* и *Glaeocephala*. Повышение уровня плоидности, возможно, является адаптацией к существованию в условиях холодного климата. У примитивных северных остролодочников (*Phacoxytropis* и частично секция *Arctobia*) видообразование происходит на диплоидном уровне. Третьим фактором видообразования Юрцев называет гибридизацию между видами, в том числе из различных секций (Yursev, 1997, 1999).

Для проверки и развития этих представлений необходимы дальнейшие исследования остролодочников. В группах со сложной морфологической эволюцией мощным инструментом для разрешения вопросов об отношениях между таксонами может служить применение молекулярных маркеров. Род *Oxytropis* очень близок крупному и весьма неоднородному роду *Astagalus*. Для изучения его систематики и реконструкции филогении на низком таксономическом уровне были успешно использованы молекулярные маркеры, в частности последовательность ДНК внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS, internal transcribed spacer) рДНК (Wojciechowski, 1993, 1999).

Таблица 1

Варибельные сайты в нуклеотидных последовательностях

таксоны	варибельные сайты																ссылка	
	28	46	47	58	61	69	77	101	115	116	117	120	139	140	141	166		201
<i>O. nigrescens</i>	T	C	G	C	G	G	G	A	Y	C	G	C	C	G	C	C	C	1
<i>O. nigrescens</i> (Тикси)	T	C	G	C	G	G	G	C	C	A	G	C	C	G	C	C	C	2
<i>O. mertensians</i> (Тикси)	T	C	G	C	G	G	G	C	C	A	G	C	C	G	C	C	C	2
<i>O. mertensiana</i> (Чукотка)	T	C	G	C	G	G	A	C	C	C	T	C	C	G	C	C	C	2
<i>O. chukotica</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	T	C	2
<i>O. semiglobosa</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	C	C	2
<i>O. leucantha</i> ssp. <i>tschukotensis</i>	T	C	G	C	G	C	G	C	C	C	G	T	C	G	C	C	C	2
<i>O. sericea</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	T	C	3
<i>O. campestris</i> var. <i>johannensis</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	T	C	4
<i>O. campestris</i> ssp. <i>jordalii</i>	T	C	G	C	G	G	G	A	N	C	T	C	C	A	C	C	C	1
<i>O. campestris</i> ssp. <i>gracilis</i>	T	C	G	C	G	C	G	C	C	C	G	T	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> ssp. <i>taymyrensis</i>	T	C	G	C	G	C	G	C	C	C	G	T	C	G	C	C	C	2
<i>O. arctica</i> var. <i>koyukukensis</i> WIS	C	C	G	G	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>koyukukensis</i> MIN	T	C	G	C	G	C	G	N	Y	C	G	T	Y	G	N	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> IBP	T	C	G	C	G	G	G	N	C	C	T	C	Y	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> SAG	T	C	G	C	G	G	G	M	C	C	T	C	C	G	A	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> TOR	C	C	G	C	G	G	G	N	N	C	G	N	C	G	A	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> VAB	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> KUG	T	C	G	C	G	M	G	C	T	C	G	N	C	G	N	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NON94	T	C	G	C	G	S	G	C	Y	C	G	T	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NON95	C	C	G	C	G	G	G	C	Y	C	G	Y	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NOR	C	C	G	C	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> KOT	T	C	G	C	G	C	G	C	C	C	G	T	C	G	C	C	C	1
<i>O. kobukensis</i>	Y	C	G	C	G	C	G	C	Y	C	G	T	C	G	C	C	C	1
<i>O. tananensis</i>	T	C	G	C	G	G	G	A	C	C	T	C	T	G	N	C	C	1
<i>O. splendens</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. pilosa</i>	T	C	G	C	A	G	G	C	C	T	G	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. viscida</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	T	C	3
<i>O. lambertii</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. oreophila</i> var. <i>juniperina</i>	T	C	G	T	G	G	G	C	C	C	T	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. szovitsii</i>	T	A	G	C	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. multiceps</i>	T	C	A	C	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	C	3
<i>O. deflexa</i>	T	C	G	C	G	G	G	C	C	C	G	C	C	G	C	C	T	4

Условные обозначения: А – аденин; Т – тимин; G – гуанин; С – цитозин; N – любое основание; Y – цитозин или тимин (пиримидин); M – аденин или цитозин; S – цитозин или гуанин% ссылки: 1 –

Таблица 1

Варибельные сайты в нуклеотидных последовательностях ITS2

ТАКСОНЫ	варибельные сайты										ссыл-ка	
<i>O. nigrescens</i>	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. nigrescens</i> (Тикси)	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. mertensians</i> (Тикси)	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. mertensiana</i> (Чукотка)	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	Г	Т	2
<i>O. pumilio</i>	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	Г	Т	2
<i>O. chukotica</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. semiglobosa</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. leucantha</i> ssp. <i>tschukotcensis</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. sericea</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	-	-	3
<i>O. campestris</i> var. <i>johannensis</i>	С	Т	А	С	А	Г	Т	С	А	Г	С	4
<i>O. campestris</i> ssp. <i>jordalii</i>	С	Т	А	Т	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. campestris</i> ssp. <i>gracilis</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> ssp. <i>taimyrensis</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	2
<i>O. arctica</i> var. <i>koyukukensis</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>koyukukensis</i> MIN	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> IBP	Т	Т	А	С	А	А	Т	С	Г	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> SAG	С	Т	А	Т	А	А	Т	С	Г	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>arctica</i> TOR	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Т	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> VAB	С	Т	А	Т	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> KUG	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NON94	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NON95	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Т	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> NOR	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Т	С	1
<i>O. arctica</i> var. <i>barnebyana</i> KOT	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. kobukensis</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. tananensis</i>	С	Т	А	Т	А	А	Т	С	А	Г	С	1
<i>O. splendens</i>	С	Т	А	Т	А	А	Т	С	А	-	-	3
<i>O. pilosa</i>	С	С	Т	С	Г	А	С	С	А	-	-	3
<i>O. viscida</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	-	-	3
<i>O. lambertii</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	Г	С	4
<i>O. oreophila</i> var. <i>juniperina</i>	С	Т	А	С	А	А	Т	С	А	-	-	3
<i>O. szovitsii</i>	С	Т	Т	С	А	А	С	С	А	-	-	3
<i>O. multiceps</i>	С	Т	Т	С	А	А	Т	С	А	-	-	3
<i>O. deflexa</i>	С	Т	Т	С	А	А	С	Т	А	Г	С	4
положение нуклеотида в последовательности	7	23	34	92	104	121	155	162	166	181	192	

Целью нашей работы было получить последовательности ДНК ITS1, ITS2 и гена 5.8S рРНК арктических представителей рода *Oxytropis* и оценить возможность использования этого молекулярного маркера для реконструкции их филогении.

Были использованы следующие материалы: *Oxytropis mertensiana* Turcz.; (Чукотка), *O. mertensiana* Turcz. (Тикси), *O. nigrescens* (Тикси), *O. semiglobosa* Jurtz. (гористое правобережье Анадыря), *O. pumilio* (Pall.) Bunge (Северо-восток Корякского побережья), *O. chukotica* Jurtz. (Чукотка), *O. arctica* ssp. *taimyrensis* Jurtz. (Тикси), *O. leucantha* (Pall.) Bunge ssp. *tschukotcensis* Jurtz. (Чукотка).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) геномной ДНК проводили с праймерами ITS1P и ITS4. ПЦР-продукты секвенировали методом с использованием терминирующих реакцию аналогов нуклеотидов. Выравнивание и анализ последовательностей ITS проводили с помощью программы Mega3.1. и BioEdit.

Длина полученных ITS фрагментов составила 602 пар оснований. Границы участков были определены путем сравнения с последовательностями ITS *O. nigrescens* и *O. tananensis* (Jorgensen, 2003). ITS1, ограниченный последовательностями 5'-TCGATG-3' и 5'-ATACAT-3', имел размер 230 пар оснований, а ITS2, который начинался 5'-CGTTGC-3' и заканчивался 5'-CGCTCA-3' – 208 пар оснований. Расхождения в последовательностях были очень малы, р-расстояние варьировались в пределах от 0 до 0,5% (расчёт путем попарного сравнения). Максимальное расстояние (0,5%) бы-

ло характерно для ITS представителей секции *Orobia* (*O. arctica* ssp. *taimyrensis*, *O. leucantha* и *O. semiglobosa*) и *O. czukotica* из *Arctobia*, с одной стороны, и *O. pumilio* и образцом *O. mertensiana* из Чукотки, с другой.

Генетическое разнообразие остролодочников по последовательностям ITS значительно ниже чем у ближайшего родственника – рода *Astragalus*, у которого расхождения по последовательностям варьировались от 0 до 18,8% для ITS1 и от 0 до 21,7% для ITS2 (Wojciechowski, 1993). Тогда как в той же работе различия между тремя остролодочниками, использованные авторами в качестве внешней группы, (*O. campestris* var. *johannensis*, *O. lambertii* и *O. deflexa*) составили 0,4–1,3% по ITS1 и 0,5–1,9% по ITS2 (Wojciechowski, 1993).

Мы сравнили ITS, полученные нами, с последовательностями остролодочников, представленными в GenBank: *O. splendens*, *O. multiceps*, *O. pilosa*, *O. viscida*, *O. sericea*, *O. besseyi*, *O. oreophila*, *O. szovitsii*, *O. lambertii* Pursh. (Wojciechowski 1993, 1999), *O. arctica*, *O. campestris*, *O. kobukensis*, *O. nigrescens* и *O. tananensis* (Jorgensen, 2003). Расстояние между другими представителями *Orobia* и остролодочниками из секции *Arctobia* варьировалось от 0 до 1,4%. Относительно высокий процент расхождения по ITS (1,4%) встречался и внутри секции *Orobia*, например, между *O. arctica* var. *arctica* и *O. arctica* var. *barnebyana*, и даже в рамках одной разновидности *O. arctica* var. *arctica* между образцами, собранными в разных местах. Более значительным р-расстояние оказалось между представителем секции *Chrysantha* *O. pilosa* и остальными остролодочниками (1,4–2,8%), причем минимальным это расстояние было между *O. pilosa* и представителями *Arctobia*. Максимальные расхождения по последовательностям ITS (до 2,8%) наблюдались между *O. deflexa* из подрода *Phacoxytropis* и многими остролодочниками подрода *Oxytropis*.

Фрагмент ITS2 составил 208 пар оснований. Единичные замены в ITS2 наблюдались у *O. arctica* var. *arctica*, *O. deflexa*, *O. pilosa* и *O. campestris* var. *johanensis*. Кроме того, у *O. nigrescens*, *O. mertensiana*, *O. pumilio*, *O. deflexa* *O. pilosa*, *O. szovitsii*, *O. multiceps* и *O. besseyi* в 31м положении располагался тимин, а у остальных – аденин. В ITS1 ряд нуклеотидных замен сосредоточен в положениях 114–122 и 138–141. Дивергенция ITS1 просматривалась по мутациям в положениях 28 (цитозин-тимин), 69 (гуанин-цитозин), 120 (гуанин-тимин) и 123 (цитозин-тимин). Замены по положениям 69 и 123 выделяют *O. arctica* ssp. *taimyrensis* и *O. leucantha* ssp. *tschukotcensis* из секвенированных нами видов. Расхождения по последовательностям наблюдались и в пределах одного вида, собранного в разных районах. Так, последовательности ITS1 *O. nigrescens* из Аляски и Тикси различались по двум позициям, а *O. mertensiana* из Тикси и Чукотки – по трём.

Низкий полиморфизм по последовательностям ITS затрудняет использование этого молекулярного маркера для исследования развития рода *Oxytropis*, но является интересным примером эволюции ITS.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 07-04-01015 и программы «Динамика генофондов».

Литература.

- Арктическая флора СССР. Выпуск 9, часть 2. Семейство *Leguminosae* / Под ред. Б.А. Юрцева. Ленинград, 1986. 188 с.
 Jorgensen J.J., Stehlik I., Brochmann C., Conti E. Implications of ITS sequences and RAPD markers for the taxonomic and biogeography of the *Oxytropis campestris* and *O. arctica* (*Fabaceae*) complexes in Alaska // J. Bot. 2003. Vol. 90. P. 1470–1480
 Wojciechowski M.F., Sanderson M.J., Baldwin B.G., Donoghue M.J. Monophyly of aneuploid *Astragalus* (*Fabaceae*): evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences // J. Bot. 1993. Vol. 80. P. 711–722
 Wojciechowski M.F., Sanderson M.J., Hu J.-M. Evidence of the monophyly of *Astragalus* (*Fabaceae*) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL* intron data // Syst. Botany. 1999. Vol. 24. P. 409–437
 Yurtsev B.A. Analysis of evolutionary differentiation in key arctic-alpine taxa: *Dryas*, *Oxytropis* sect. *Arctobia* and *Taraxacum* sect. *Arctica*. // Opera Bot. 1997. Vol. 132. P. 27–37
 Yurtsev B.A. Survey of arctic legumes with emphasis on the species concept in *Oxytropis*. // The species concept in the High North – A Panarctic Flora Initiative. Oslo. 1999. P. 295–318

АНАЛИЗ РОДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ В РОДЕ *POA* L. S.L. ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ВНУТРЕННИХ ТРАНСКРИБИРУЕМЫХ СПЕЙСЕРОВ ITS1 И ITS2 ЯДЕРНОГО ГЕНА 45S РРНК

Носов Н.Н.¹, Ким Е.С.¹, Мачс Э.М.¹, Пунина Е.О.¹, Пробатова Н.С.², Родионов А.В.¹

¹ Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

² Владивосток, Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Род *Poa* L. – крупнейший в семействе злаков (*Poaceae*), насчитывающий около 575 видов (Gillespie, Soreng, 2005). Особый интерес представляет положение рода внутри трибы *Poeae*, а также эволюция кариотипов *Poa*. Систематика рода *Poa* до сих пор служит предметом дискуссий. Высокая плоидность большинства видов, частый апомиксис и гибридизация препятствуют созданию четкой системы рода и усложняют разграничение видов. Особенно это касается секций *Poa* и *Stenopoa*.

В связи с этим важность приобретают молекулярно-филогенетические методы, такие, как анализ последовательностей ядерных и хлоропластных генов. Мы секвенировали район ITS1-ген 5.8S рРНК-ITS2 у 20 видов и одного подвида рода *Poa*. Также мы добавили в анализ последовательности этого района других представителей рода *Poa* и триб *Aveneae* и *Poeae* из GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/). Сравнение ITS показало, что в целом род *Poa* парафилетичен, подроды *Arctopoa* и *Andinae* группируются с *Dupontia fischeri* и *Arctagrostis latifolia*, соответственно. Первый из исследованных видов подрода *Arctopoa*, *Poa schischkinii* – высокий аллополиплоид с $2n=70$. По всей видимости, он происходит от гибридизации близкого вида *P. subfastigiata* с какой-то 28-хромосомной расой *Poa*, близкой современному виду *P. tibetica*. Интересно, что ITS *P. eminens* с $2n=42$, считающегося одним из самых архаичных *Arctopoa* (Пробатова, 2003), практически не отличается от *P. schischkinii*. Можно предположить, что в геноме аллополиплоидного *P. schischkinii* доминируют и лучше всего амплифицируются последовательности рДНК, наиболее близкие к анцестральным для *Arctopoa*. Представители подродов *Arctopoa* и *Andinae* имеют ряд черт, отличающих их от видов рода *Poa* – например, развитая гиподерма листа и удлинённый островатый каллус у *Arctopoa*, ости нижних цветковых чешуй у *Andinae*.

Подрод *Poa* монофилетичен, при этом входит в состав высоко достоверной клады, включающей в себя подтрибу *Poinae*. Интересно отметить ряд базальных клад, в которые входят секции, считавшиеся базальными в предыдущих схемах рода (*Ochlopoa*, *Alpinae*, *Bolbophorum*, *Pandemos*) и кладу, в которую входят остальные секции и группы.

Несомненная взаимная близость ITS-последовательностей *Ochlopoa* (*P. infirma*, *P. supina* и *P. annua*), характеризующихся большим числом синапоморфных замен, указывает на естественность и сильную обособленность этой секции. В тоже время, наши данные согласуются с гипотезой о гибридном происхождении тетраплоида *P. annua* путем гибридизации двух диплоидных видов – *P. supina* и *P. infirma* (Tutin, 1957). Эта секция несет ряд предположительно плезиоморфных признаков – внутривлагалищное ветвление, отсутствие пучка волосков на каллусе нижних цветковых чешуй, длинные волоски на киях верхних цветковых чешуй. Впервые сведения о базальном положении этой секции приведены у Дж. Наннфельда (Nannfeldt, 1935).

Секции *Alpinae* и *Bolbophorum* монофилетичны, как и в традиционных системах, но не объединяются с секцией *Poa*. У *P. alpina* на киях верхних цветковых чешуй также имеются длинные волоски, а не шипиковидные трихомы, что позволило некоторым авторам выделить его в группу *Semipilosae* (Oettingen, 1925, цит. по: Nannfeldt, 1935).

Остается неясным положение *P. trivialis* (sect. *Pandemos*), который группируется и с *P. alpina* и с *Ochlopoa*, но с чрезвычайно малой поддержкой (26–30%). Известные ITS-последовательности *P. trivialis* гетерогенны – образцы из Испании и Франции имеют характерную 3-х нуклеотидную делецию в ITS2, найденную также у *P. infirma*, и несут нуклеотидные замены, общие как с *P. alpina* так и с *P. annua*. Морфологически sect. *Pandemos* (=sect. *Coenopoa* Nyl.) стоит весьма обособленно от *Stenopoa*, ряд признаков сближает его с типовой секцией *Poa* (пирамидальная форма метелки), либо с *Ochlopoa* (простое анатомическое строение листьев, слабое опушение, сходство в форме роста) (Nannfeldt, 1935), с *Alpinae* (удлинённый и заостренный язычок верхних листьев); с *Homalopoa* (шероховатость влагалищ листьев) (Nannfeldt, 1935) К тому же, в секции *Pandemos* не отмечено ни случаев гибридизации с представителями других секций, ни вивипарии (Nannfeldt, 1935). Сравнение последовательностей ядерных генов *trx* и CDO504 также не дает определенного ответа о родстве *P. trivialis* (Patterson et al., 2005). Однако, как это следует из сравнения хлоропластных генов (Patterson et al., 2005; Gillespie, Soreng, 2005), по материнской линии вид определенно родственен *Stenopoa*. *P. trivialis* – первичный диплоид ($2n=14$), поэтому можно предполагать, что *P. trivialis* (или родственный вид) участвовал в образовании полиплоидных видов *Stenopoa*, а также видов секции *Poa* (Пробатова, 1969; Patterson et al., 2005).

Интересно отметить монофилетичность клады, в которую входят все остальные секции и группы. Первичные диплоиды из секций *Homalopoa* – *P. chaixii* и *P. remota*, *Macropoa* – *P. sibirica* занимают неопределенное положение в кладе. Это связано, видимо, с тем, что их ITS-последовательности близки консенсусной последовательности для этой большой клады, и не имеют собственных апоморфных замен. Эти виды считаются предковыми или близкими к предковым для большинства других представителей клады, например для видов типовой полиплоидной секции *Poa*, которая, скорее всего, в целом гибридогенная (Пробатова, 1969; Patterson et al., 2005). Виды секции *Poa* разделяются на две группы, в первую из которых попадают культивары *P. pratensis*, северная дерновинная раса *P. pratensis*, *P. angustifolia*, а во вторую – *P. alpigena* и *P. tianschanica*. *P. abbreviata* занимает неопределенную позицию, но не группируется со *Stenopoa*, как было выявлено при анализе хлоропластных генов (Gillespie, Soreng, 2005). В эту большую кладу входят также два американских высокогорных злака *Dissanthelium calycinum* и *Anthochloa lepidula*, хотя их ближайшие родственники внутри клады не ясны (низкий индекс бутстрэп-поддержки). *Anthochloa lepidula* ранее считали представителем трибы *Meliceae* (Clayton et al., 2002), в дальнейшем было показано их родство с мятликами (Quintana et al., 2007).

Представители секций *Stenopoa*, *Tichopoa*, *Oreinos* и *Secundae* формируют хорошо поддержанную кладу. Первые 2 секции считаются близкородственными и в традиционных системах. В основном, они тетрап-

лоиды ($2n=28$), гексаплоиды ($2n=42$), (Соколовская, 1955; Цвелёв, 1976а), иногда вторичные диплоиды – например, *P. palustris* (Петрова, 1968). *P. glauca* – высокополиплоидный вид, до $2n=70$. С ними же группируется *P. hartzii*. Морфологически *P. hartzii* похож на представителей секции *Abbreviatae*, но имеет волосковидные трихомы на киях верхней цветковой чешуи, сближающие его с видами секции *Alpinae*. Скорее всего, он происходит от гибридизации *P. glauca* с видами секции *Alpinae* (Nannfeldt, 1935), либо родственен видам секции *Secundae* (Gillespie, Soreng, 2005).

Новозеландские мятлики (кроме *P. ramosissima*, занимающего неопределенное положение), судя по ITS, разделяются на две монофилетические группы. Первая из них включает высокополиплоидные мятлики *P. cita*, *P. chathamica*, *P. litorosa*, и тетраплоидные *P. anceps* и *P. triodioides* (= *Austrofestuca littoralis*). Виды *Poa*, входящие в эту кладу – скорее всего, произошли от предков, близких *Homalopoa*, так как, например, *P. anceps* явно имеет морфологические черты, близкие к *Homalopoa* – крупные размеры, уплотненные влагалища листьев с небольшим крылатым килем. *P. triodioides* (= *Austrofestuca littoralis*), напротив, имеет черты, сближающие ее с представителями подтрибы *Festucinae*, и с видами подрода *Andinae* – заостренный кончик нижней цветковой чешуи, опушенные лодикулы, длинные волоски на оси колоска (Edgar, 1986; Gillespie, Soreng, 2005). Можно предположить, что в образовании *P. triodioides* участвовало несколько неродственных представителей трибы *Poeae*, в частности виды родства *P. anceps* и *Andinae*. Любопытно, что новозеландские *Hookerchloa hookeriana* и *Festucella eriopoda*, виды, ранее относимые к роду *Austrofestuca*, по данным молекулярно-филогенетического анализа оказываются близкими именно к подроду *Andinae* и *Arctagrostis latifolia*, резко отличаясь от представителей подрода *Poa* s.str. Вторая группа новозеландских мятликов – тетраплоиды, представители крупной группы родства (Edgar, 1986). Судя по ITS, они монофилетичны с *P. arctica*, *P. turneri*, *P. smirnowii* из подсекции *Malacanthae* секции *Poa*. Первый из них, по-видимому, является сложным гибридогенным видом, один из предков для которого мог быть вид секции *Malacanthae*, а вторым, может быть, вид из секции *Abbreviatae*. Возможно, это свидетельство межполосной дизъюнкции – носитель одного из предковых геномов большинства тетраплоидных новозеландских видов был родственен *Malacanthae* и расселился в Южное полушарие, например, по цепи Кордильер. Любопытно, что виды подсекции *Malacanthae* сохранили ряд признаков, считающихся базальными – длинные волоски на киях верхних цветковых чешуй, внутривлагалищное ветвление у некоторых видов, напоминая этим виды секции *Alpinae*.

Для того, чтобы проверить заключения о естественности (достоверности) групп общности видов *Poa*, выявленных при анализе быстро эволюционирующих последовательностей ITS, мы проанализировали медленно изменяющуюся в эволюции 5.8S рРНК мятликов. Все 9 видов клады (*Stenopoa*+*Oreinos*+*Tichopoa*+*P. hartzii*) несли характерную только для них замену С→А в положении 156, что подтверждает несомненную близость этих секций. По две уникальные замены отличали 5.8S рРНК *Pandemos* и *Ochlopoa* от типичной (вероятно, предковой для *Poa*) последовательности, что является аргументом в пользу относительной давности дивергенции этих секций. И, наконец, 5.8S рРНК *Arctopoa* и *Andinae* отличается от 5.8S рРНК других *Poa* характерной заменой в однонитевом районе третьей шпильки, такой же, как у *Dupontia*, *Arctagrostis*, *Hookerchloa* и *Festucella*, что служит дополнительным веским аргументом в пользу разделения *Poa* и *Arctopoa* на два отдельных рода (Пробатова, 1974, 2003).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №№ 06-04-48399, 07-04-00610) и Программы «Динамика генофондов».

Литература

- Петрова О.А. Хромосомный состав некоторых злаков флоры Украины в связи с условиями их произрастания. // Биологическая наука в университетах и педагогических институтах Украины за 50 лет. Харьков, 1968. С.37-39.
- Пробатова Н.С. К вопросу о системе рода мятлик (*Poa* L.) в связи с изучением его дальневосточных представителей. // Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука, 1969. Вып. 16. С.117 – 127.
- Пробатова Н.С. О новом роде *Arctopoa* (Griseb.) Probat. (*Poaceae*) // Новости сист. высш. раст. 1974. Вып. 11. С. 44–55.
- Пробатова Н.С. Род *Arctopoa* (Griseb.) Probat. (*Poaceae*): таксономия, числа хромосом, биогеография и дифференциация // Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука, 2003. Вып. 49. С. 89–130.
- Соколовская А. П. Величина пыльцевых зерен и числа хромосом у некоторых арктических видов злаков. // Бот. журн. 1955. Т. 40 №6. С. 850–853.
- Цвелёв Н.Н. О происхождении арктических злаков (*Poaceae*). // Бот. журн. 1976а. Т. 61. №10. С. 1354–1363.
- Clayton W.D., Harman K.T., Williamson H. (2002 onwards). World Grass Species: Descriptions, Identification, and Information Retrieval // <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>.
- Edgar E. *Poa* in New Zealand. // N. Z. J. Bot. 1986. Vol. 24. P. 425–503.
- Gillespie L.J., Soreng R.J. A phylogenetic analysis of the Bluegrass Genus *Poa* based on cpDNA restriction site data. // Syst. Bot. 2005. Vol. 30. P. 84–105.
- Nannfeldt J.A. Taxonomical and plant-geographical studies in the *Poa laxa* group. A contribution to the history of the North European mountain floras. // Symb. Bot. Ups. 1935. Vol. 1. № 5. P. 1–113.
- Patterson J.P., Larson S.R., Johnson P.G. Genome relationships in polyploid *Poa pratensis* and other *Poa* species inferred from phylogenetic analysis of nuclear and chloroplast DNA sequences. // Genome. 2005. Vol. 48. P. 76–87.

Quintanar A., Castrovejo S., Catalan P. Phylogeny of the tribe Aveneae (Pooideae, Poaceae) inferred from plastid trnT-F and nuclear ITS sequences // Amer. J. Bot. 2007. Vol. 94. P. 1554–1569.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СКАНДИНАВСКИХ СОРТОВ ОВСА ПОСЕВНОГО ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Перчук И.Н., Лоскутов И.Г.

С-Петербург, ГНЦ РФ ВНИИР им. Н. И. Вавилова

В настоящее время методы молекулярных маркеров (белков, нуклеиновых кислот) активно привлекаются для решения теоретических и практических задач селекции злаков, в том числе представителей рода *Avena* L. Использование метода RAPD-анализа и электрофореза авенина (запасного белка семян овса) позволило оценить меж- и внутривидовое разнообразие дикорастущих и культурных видов овса, уточнить видовую принадлежность ряда образцов (Перчук, Лоскутов, Окуно, 2002; Лоскутов, Губарева, Алпатьева, 2005; Лоскутов, 2007). Овес посевной – *Avena sativa* L. – является одной из важнейших сельскохозяйственных культур. Использование электрофореза авенина наряду с анализом морфологических признаков дает наиболее полное представление о генетическом разнообразии овса посевного. Полученная информация позволяет максимально эффективно изучать коллекцию данной культуры и использовать ее. Многокомпонентность и гетерогенность электрофоретического спектра авенина позволяет использовать этот признак для характеристики и идентификации образцов, сортов и линий данного вида овса (Зеленская, Конарев, Лоскутов и др., 2004).

Целью настоящей работы являлось изучение внутривидового разнообразия скандинавских сортов овса посевного из коллекции ВИР. Материалом для исследования послужили 16 сортов из Дании, 15 сортов из Норвегии, 26 сортов из Швеции и 18 сортов из Финляндии. В то же время, данные сорта представляли внутривидовое разнообразие и относились к 7 разновидностям овса посевного: var. *mutica* (34 сорта), var. *aurea* (11), var. *aristata* (10), var. *montana* (8), var. *brunnea* (8), var. *inermis* (2), var. *flava* (1) и var. *ligulata* (1). Состав сорта по типам спектра авенина определяли при посевном электрофоретическом анализе, где каждому биотипу (генотипу) сорта соответствовал свой тип электрофоретического спектра. Сравнение сортов по составу проводили на основании показателя частоты встречаемости типа спектра в стандартной выборке (100 зерновок). Суммарный электрофоретический спектр авенина для данной выборки состоял из 22 компонентов, соответствующих α -, β - и БП – фракциям проламинов злаков. Зарегистрировано 50 типов спектра, состоящих из 5–10 компонентов. Показатель частоты встречаемости 12 типов спектра в стандартной выборке был незначительным – 1–8%. Для остальных типов спектра этот показатель составил от 10 до 100%. Состав образцов и сортов большинства самоопыляющихся культур характеризуется очень низким уровнем полиморфизма по типам спектра проламина. Это было отмечено и для скандинавских сортов. В составе 50 сортов зарегистрировано 1–3 типа спектра авенина, причем доля доминирующего типа спектра составляла 90–100%. Лишь у 15 сортов этот показатель был ниже (43–75%) при 3–6 зарегистрированных типов спектра.

Проведенный сравнительный анализ показал, что чуть больше половины изученных сортов являются оригинальными по составу спектров. Одни и те же типы спектров были зарегистрированы в составе сортов из разных стран, однако, показатели частоты их встречаемости варьировали в пределах 1–100%. В составе сортов каждой из стран было отмечено по 3–5 типов спектра (с частотой встречаемости более 15%), характерных только для одной страны. Для Дании специфичны типы спектра №№ 3, 11, 28, 65; для Швеции – №№ 1, 62, 63, 67; для Финляндии – №№ 17, 19, 57; для Норвегии – №№ 16, 43, 70, 74, 76.

Среди остальных сортов были выявлены группы сортов, генетически близкие по своей природе. Так, в составе 13 сортов из всех четырех стран доминировал тип спектра № 13 (93–100%). Такой же показатель отмечен для типа спектра № 25 у 4 сортов из Дании, Финляндии и Швеции; для типа спектра № 7 для 5 сортов из Дании и Швеции. Генетически близкие сорта были отмечены и в каждой отдельной стране. Возможно это связано с происхождением сортов – задачами и методами их селекции. Некоторые сорта были созданы в одном и том же временном интервале. В родословных некоторых генетически близких пар сортов из Дании и Швеции упоминаются одни и те же источники их происхождения. При проведении кластерного анализа на основе коэффициентов сходства доминирующих типов спектра по Дайсу такие сорта образовывали отдельные кластеры. Но четкого деления на кластеры, связанного с происхождением сортов или их систематическим положением не наблюдалось. Однако, при использовании однофакторного дисперсионного анализа были выявлены достоверные различия по частотам встречаемости отдельных компонентов авенина в доминирующих типах спектра. Эти различия были достоверны как между сортами из разных стран, так и между сортами, принадлежащими к различным разновидностям овса посевного. Причем, «вклад» в различия между сортами определялся разными компонентами авенина. За различия между сортами из разных стран «отвечали» некоторые компоненты, относящиеся к группе α – и β – проламинов. Различия между сортами, принадле-

жащими к разным разновидностям овса, были обусловлены компонентами быстрых проламинов (БП). Разнообразности овса определяются набором морфологических признаков, имеющих важное таксономическое значение, связанных со структурой репродуктивных органов овса, а именно, с окраской цветковой чешуи, наличием на ней ости и с характером метелки. Ранее установлено, что синтез компонентов авенина овса посевного контролируется тремя независимыми локусами Avn A, Avn B и Avn C, расположенными в трех гомеологичных хромосомах генома овса посевного (Портянко, Поморцев, Калашник и др., 1987). Компоненты α – и β – проламинов кодируются аллелями, расположенными во всех трех локусах. Синтез компонентов БП контролируется аллелями, принадлежащими только локусу Avn C. Возможно, что эта группа авенинов представляется наиболее перспективной для изучения филогении и систематики данного вида овса. Данная работа была проведена на селекционных сортах, которые были подвергнуты определенному отбору. Однако, тенденции, отмеченные в настоящей работе могут быть использованы при дальнейшем изучении генофонда овса посевного с привлечением нового дикорастущего, местного и селекционного материала.

Литература

- Зеленская Е.Г., Конарев А.В., Лоскутов И.Г., Губарева Н.К., Стрельченко П.П. Характеристика старо-местных форм овса посевного (*Avena sativa* L.) из коллекции ВИР по полиморфизму авенина. // Аграрная Россия. 2004. № 6. С.50 – 58.
- Лоскутов И.Г., Губарева Н.К., Алтатьева Н.В. Полиморфизм авенина в изучении дикорастущих видов овса. // Аграрная Россия. 2005. № 2. С.43 – 48.
- Лоскутов И.Г. Овес (*Avena* L.). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. СПб. ГНЦ РФ ВИР. 2007. 336 с.
- Перчук И.Н., Лоскутов И.Г., Окуно К. Изучение видового разнообразия овса с использованием RAPD-анализа. // Аграрная Россия. 2002. № 3. С.41 – 44
- Портянко В.А., Поморцев А.А., Калашник Н.А., Богачков В.И., Созинов А.А. Генетический контроль авенинов и принципы их классификации. // Генетика. 1987. Т. 23. № 5. С.845 – 853.

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ПЛЕЙСТОЦЕНОВОМ РЕФУГИУМЕ ЛЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ОХОТСКОГО МОРЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПОДХОД

Полежаева М.А.¹, Семериков В.Л.²

¹Магадан, Институт биологических проблем Севера ДВО РАН

²Екатеринбург, Институт экологии растений и животных УрО РАН

Оледенение на территории Северо-Востока Азии в период последнего (сартанского) максимума около 18–20 тыс. лет назад носило сетчатый характер. Таким образом, большая его часть была свободна от ледниковых покровов, но в силу суровости климата (низкие среднегодовые температуры и малое количество осадков) растительность в основном была представлена тундровыми сообществами. Эрик Хультен (1937) рассматривал данную территорию в качестве плейстоценового рефугиума для трав и кустарников, давшим начало современной арктической флоре, однако только сравнительно недавно стали появляться данные о его роли как убежища для бореальных деревьев и кустарников (Brubaker et. al., 2005). Существует мнение, что один из рефугиумов, в котором сохранялись такие представители древесной растительности как *Larix dahurica* s.l., *Betula fruticosa*, *B. middendorffii*, *Populus suaveolens* и др., в течение ледниковых интервалов позднего плейстоцена мог располагаться на узкой полосе суши вдоль северного побережья Охотского моря (Ложкин, 2002).

Как основная лесообразующая порода Восточной Сибири и Дальнего Востока России лиственница является хорошим объектом для изучения данного вопроса. Несмотря на многочисленные работы, посвященные исследованию рода *Larix*, единого мнения о количестве видов в нем нет. Это обусловлено явлением интрогрессивной гибридизации, в результате которой появляются межвидовые гибриды с промежуточными характеристиками. Для территории Восточной Сибири и Дальнего Востока согласно Боброву (1978) выделяют 7 видов, из них 3 гибридных: *Larix kamtschatica* (Rupr.), *L. x maritima* Sukacz., *L. olgensis* A. Henry, *L. x lubarskii* Sukacz., *L. x czekanowskii* Szaf., *L. gmelinii* Rupr. и *L. cajanderi* Mayr. Число видов варьирует у разных авторов в основном за счет придания видовой самостоятельности некоторым гибридным формам (Колесников, 1946; Дылис, 1961 и др.)

Основным методом, используемым для палеореконструкций растительности, является палинологический. Однако известно, что данный метод имеет ряд недостатков, таких как переотложение пыльцы из более древних слоев, ее плохая сохранность, а также перенос пыльцы на большие расстояния. Например, известно, что в современных спорово-пыльцевых спектрах из отложений озер Северо-Востока Азии часто в больших количествах обнаруживается перенесенная ветром пыльца тех растений, которые произрастают в нескольких сотнях и даже тысячах километров от места взятия пробы

(Ложкин, 2002). В то же время, очевидно, что резкие климатические флуктуации, обуславливающие динамику растительного покрова, наложили отпечаток на генетическую структуру видов, изменявших свой ареал во время чередования холодных и теплых эпох. В настоящее время молекулярные методы анализа генетической изменчивости стали еще одним эффективным инструментом, позволяющим делать выводы об истории видов. Одним из таких методов является анализ микросателлитов (коротких tandemных повторов) хлоропластной ДНК. Особенностью данного типа молекулярных маркеров является их унипарентальное наследование. В сем. Pinaceae хлоропласты наследуются только по отцовской линии, что обуславливает в два раза меньший эффективный размер популяции по сравнению с ядерными генами (Neale, 1989). Поток генов хлДНК в основном происходит за счет распространения пыльцы. В ряде работ этот метод успешно использовались для биогеографических выводов (Provan et. al., 2001; Семерикова, 2007).

Цель исследования заключалась в изучении изменчивости двух микросателлитов хлоропластной ДНК в 44 выборках из естественных мест произрастания лиственницы в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке России: Красноярского края, Забайкалья, северо-восточной Якутии, Магаданской области, Чукотки, Камчатки, Хабаровского края, Амурской области, Сахалина и Курильских островов, размер выборок составлял от 12 до 30 индивидуумов. Также для сравнения в анализ был включен материал, ранее исследованный В.Л. Семериковым (2007) – 5 выборок: из Бурятии (№48), Читинской области (№47), Приморья (№35, 36) и Японии (№49). Размер выборок от 8 до 20 индивидуумов. Номера выборок указаны на рис. 1.

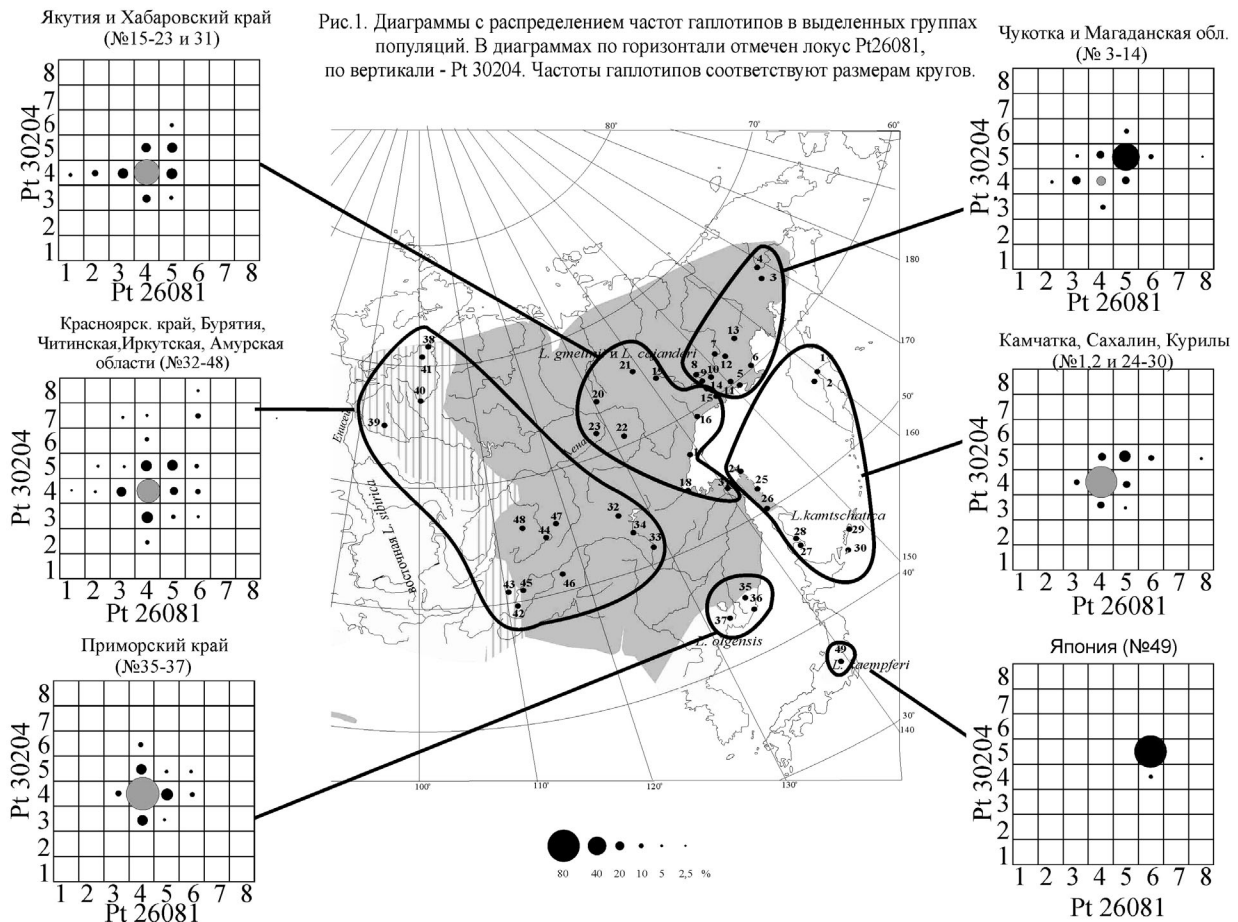


Рис. 1. Диаграммы с распределением частот гаплотипов в выделенных группах популяций. В диаграммах по горизонтали отмечен локус Pt26081, по вертикали - Pt 30204. Частоты гаплотипов соответствуют размерам кругов.

Анализ проводили с использованием универсальных пар праймеров для хлоропластных микросателлитов, сконструированных на основе сиквенса *Pinus tunbergii* – Pt 26081 и Pt30204 (Vendramin et. al., 1996) методом полимеразной цепной реакции. Генетическая изменчивость внутри выборок, между ними и между группами выборок оценивалась с помощью анализа молекулярной вариации AMOVA с использованием программы Arlequine 2.000. Вычислялись статистики: Gst (на основе частот гаплотипов в выборках без учета информации о степени их сходства) и Rst (аналога, вычисленного с учетом генетических дистанций между гаплотипами). Сравнение Gst и Rst проводили с помощью программы Permut CPSSR ([www. Pierroton.intra.fr/genetics/lab0/Software/](http://www.Pierroton.intra.fr/genetics/lab0/Software/)).

Изменчивость по обоим микросателлитам определялась наличием нескольких аллелей (вариантов размеров амплификации), самому короткому из которых условно присваивался номер 1, на один нуклеотид длиннее – 2 и т.д. Их сочетания позволили выявить 22 гаплотипа.

Для удобства сравнения результатов выборки были объединены в шесть групп. Значение индексов $Gst = 0,197$, $Rst = 0,236$ указывают, что большая часть изменчивости сосредоточена внутри выборок, на долю изменчивости между выборками приходится при использовании показателя Rst 10, 86%, при использовании Gst – 6,77%, а между сформированными группами популяций – 12,7% и 12,93%, соответственно, что говорит о высокой степени генетической дифференциации выделенных групп. Однако показатель Rst недостоверно больше Gst ($P=0,223$), следовательно, нет тенденции к совместному сосуществованию филогенетически близких гаплотипов в одной выборке, и, по всей видимости, они имеют общее происхождение.

Относительно разнообразия гаплотипов в отдельных выборках число их варьировало от 1 до 9. Один гаплотип – 4/4 (здесь и далее первая цифра соответствует аллелю локуса Pt26081, вторая – Pt30204) оказался фиксированным для о.Шикотан (выборка №30, количество индивидуумов 25). Наибольшее разнообразие гаплотипов (5–9) наблюдалось в выборках (№38–48). В остальных выборках чаще всего присутствовало 3–4 гаплотипа.

Соотношение частоты гаплотипов в разных географических группах неодинаково (Рис.1). Единственная выборка из Японии (№49), где произрастает *L.leptolepis* выделена в самостоятельную группу из-за резкого отличия по частоте гаплотипов 6/5 и 6/4 – 87,5% и 12,5%, соответственно. Малое разнообразие гаплотипов, вероятно, обусловлено резким сокращением численности этой лиственницы в прошлом и ее длительной изоляцией. В настоящее время природный ареал произрастания *L.leptolepis* невелик и ограничен центральной горной областью о. Хонсю, на высоте 500–2300 м.над у.м. Наибольшее разнообразие гаплотипов характерно для группы, объединяющей выборки из юго-западной части ареала *L.gmelinii* и зоны контакта между *L.gmelinii* и *L.sibirica* (*L.x czekanowskii*) в основном за счет присутствия с низкой частотой редких гаплотипов, что, видимо, связано с внедрением хлоропластных генов сибирской лиственницы. Таким образом подтверждается гибридизация между этими видами. В целом для всех групп, кроме Японии были характерны шесть общих гаплотипов: 5/5, 4/5, 5/4, 4/4, 4/3 и 3/4. Из них наиболее отчетливо выделяется группа, объединяющая популяции к востоку от Верхоянского хребта. Здесь гаплотип 5/5 достигает максимальной частоты 57%, тогда как в остальных группах не превышает 11%. Этот факт отражает так называемый эффект «бутылочного горлышка», прохождение которого в популяции сопровождается значительным генетическим дрейфом. Маркеры хлоропластной ДНК, наследуемые унипарентально, тем более чувствительны к подобным историческим событиям. При дальнейшем расселении преимущество в распространении получает тот гаплотип, который с большей частотой был представлен в изолированной популяции. Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность сохранения лиственницы Каяндера во время последнего ледникового максимума в изолированных убежищах на территории Магаданской области и дальнейшее ее расселение по всему северо-востоку Азии. Однако вопрос о количестве возможных рефугиумов остается открытым. Для его решения необходимы дальнейшие исследования.

Оставшиеся четыре группы весьма схожи между собой по частоте основных гаплотипов, несмотря на то, что включают разные виды. Это, с одной стороны, может объясняться общностью их происхождения, хотя, с другой, исследования изменчивости митохондриальной ДНК (Семериков, Полежаева, 2007), показывают довольно четкие отличия популяций Камчатки, Сахалина и Приморья. Вероятнее всего более слабо выраженная генетическая структура по хлоропластным маркерам обусловлена интенсивными пыльцевыми потоками. Известно, что пыльца ветроопыляемых видов, к которым относится и лиственница, может разноситься на сотни километров, таким образом достаточно быстро стирая накопившиеся во времени генетические различия. В данном случае Верхоянский хребет, покрытый во время сартанского максимума ледниками, выступал в качестве мощного физического барьера, препятствующего перемешиванию генетических потоков.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 07-04-90824 и грантов ДВО 07-III-Д06-065 и 06-I-III-036.

Литература

- Бобров Е.Г. Лесообразующие Хвойные СССР. – Л.: Наука, 1978, 189с.
 Дылис Н.В. Лиственницы Восточной Сибири и Дальнего Востока. – М.: изд-во АН СССР, 1961, 209с.
 Колесников Б.П. К систематике и истории развития лиственниц секции Pauciseriales Patschke – В кн.: Материалы по истории флоры и растительности СССР. - Вып. 2. – М.: Изд-во АН СССР, 1946. С. 321–364.
 Ложкин А.В. Современный пыльцевой дождь в арктических районах Берингии и реконструкция растительности ледниковых интервалов плейстоцена // Четвертичная палеогеография Берингии. – Магадан, 2002. С. 13–27.
 Семериков В.Л. Популяционная структура и молекулярная систематика видов *Larix* Mill. Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.б.н.- Екатеринбург, 2007. 42с.

Семериков В.Л., Полежаева М.А. Структура изменчивости митохондриальной ДНК лиственниц Восточной Сибири и Дальнего Востока. // Генетика, 2007 – Т. 43, №6. – С. 782–789

Семерикова С.А., Семериков В.Л. Изменчивость хлоропластных микросателлитных локусов у пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и двух дальневосточных видов пихт *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim. и *A. sachalinensis* Fr. Schmidt // Генетика, 2007. – Т. 43, № 12. – С.1–10.

Brubaker L.B., Anderson P.M., Edwards M.E., Lozhkin A.V. Beringia as a glacial refugium for boreal trees and shrubs: new perspectives from mapped pollen data // Journal of Biogeography (2005) 32. pp. 833–848

Hulten E. Outline of the History of Arctic and Boreal Biota During the Quaternary Period. Lehre J Cramer, New York. 1937. 345 p.

Neale D.B., Sederoff R.R. Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine // Theoretical and Applied Genetics. 1089.V.77, pp.212–216

Provan J., Powell W., Hollingsworth P.M. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution // Trends in Ecology and Evolution. 2001. V.16, pp.142–147.

Vendramin G. G., Lelli L., Rossi P., Morgante M. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae // Molecular Ecology 1996.V.5, pp.111–114.

МЕТОДЫ КЛАССИФИКАЦИИ ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ

Потокина Е.К., Александрова Т.Г.

Санкт-Петербург, Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР)

При обработке результатов анализа генетического разнообразия с использованием молекулярных маркеров традиционными являются приемы «числовой таксономии» (Sneath, Sokal, 1963). В качестве признака рассматривается факт «присутствия (1)» или «отсутствия (0)» фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Анализ начинается с составления бинарной (1/0) матрицы, на ее основе рассчитываются попарные коэффициенты сходства между исследуемыми образцами. Расчет попарных коэффициентов сходства практически всегда имеет в виду расчет процента совпадения «присутствия/отсутствия» фрагментов у двух образцов от общего числа наблюдений (Jaccard, 1908; Dice, 1945; Nei, Li, 1979). Полученная матрица коэффициентов сходства визуализируется с помощью дендрограммы, которая графически отображает степень генетического сходства между образцами (или филогенетической близости между таксонами). Описанная процедура является весьма эффективной при сравнении видов или таксонов более крупного ранга, так как у видов всегда присутствует определенный процент видо-специфичных аллелей. Чем больше этот процент у конкретного вида, тем меньше его коэффициент сходства с остальной выборкой, тем более обособлен вид с филогенетической точки зрения.

Специфика анализа внутривидового разнообразия состоит в том, что популяции различаются не фактом присутствия или отсутствия определенных аллелей, а их частотным соотношением. Поэтому для классификации внутривидового разнообразия более эффективным является расчет коэффициента генетического сходства популяций, основанный на сравнении частотного соотношения аллелей (Nei, 1972). В работе анализировалась частота встречаемости 64 AFLP-фрагментов (AFLP, Amplified Fragment Length Polymorphism) в образцах сорнополевых и дикорастущих популяциях посевной вики (*Vicia sativa* L.) из коллекции ВИР. Образцы были собраны в 11 эколого-географических регионах России и сопредельных государств. Дендрограмма UPGMA (невзвешенный парно-групповой кластерный анализ с арифметическим усреднением), отражающая рассчитанные генетические дистанции по Nei (1972) показала, что степень сходства регионов по частоте встречаемости AFLP-фрагментов в популяциях пропорциональна их географической близости. Наиболее сходными с генетической точки зрения являются популяции из Поволжья, Центрального, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов. Наиболее обособленными являются популяции из государств Закавказья, а также образцы из Сибири. Проведенный анализ дает общее представление о степени сходства популяций посевной вики из разных регионов. Однако, с практической точки зрения организации и использования генофонда, гораздо более важным представляется охарактеризовать генетические различия популяций, собранных из одного эколого-географического региона.

Если отдельные части ареала вида различаются частотным соотношением аллелей, то для каждого конкретного региона появляется возможность различать редкие и широко встречающиеся аллели, и на основе частоты их встречаемости проводить процедуру «взвешивания» аллелей, выявленных у популяций с помощью молекулярного маркирования. Как следствие, каждая популяция в пределах конкретного региона может быть охарактеризована с точки зрения пропорции редких и обычных аллелей в виде рассчитанного коэффициента генетической оригинальности (КГО) в системе местного генофонда.

Таблица 1

Схема расчета коэффициента генетической оригинальности популяции в системе местного генофонда на примере 80 образцов коллекции ВИР из Поволжья и Волго-Вятского региона. Слева: исходная матрица присутствия-отсутствия AFLP-фрагментов у образцов (K00000 – номера каталога ВИР). В центре: «Взвешенные» значения присутствия-отсутствия AFLP-фрагментов, рассчитанные на основе частоты их встречаемости в выборке. Справа: \sum -сумма «весов» всех AFLP-фрагментов для каждого образца. $KGO = \sum \ln$ – коэффициент генетической оригинальности образца как частное полученной суммы и количества проанализированных AFLP-фрагментов (n=59). Log KGO – логарифм KGO по основанию 2. «KGO по шкале» – градация значения KGO по 5-бальной шкале

AFLP (Н.П.)	285	292	300	248	228	...	AFLP (Н.П.)	285	292	300	248	228	...	Σ	$KGO = \sum / N$	LOG KGO	KGO ПО ШКАЛЕ
K00843	0	1	1	0	0	...	K00843	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	56,32	0,95	-0,07	3
K31049	1	1	1	0	0	...	K31049	4,33	0,05	0,31	0,14	0,05	...	40,45	0,69	-0,55	3
K34622	0	1	1	0	0	...	K34622	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	72,82	1,23	0,30	4
K00811	0	1	1	0	0	...	K00811	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	16,20	0,27	-1,87	1
K00833	0	1	1	1	0	...	K00833	0,23	0,05	0,31	7,00	0,05	...	44,18	0,75	-0,42	3
K00839	0	1	1	0	0	...	K00839	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	60,92	1,03	0,05	3
K00841	0	1	0	0	0	...	K00841	0,23	0,05	3,21	0,14	0,05	...	49,47	0,84	-0,25	3
K00842	0	1	1	1	0	...	K00842	0,23	0,05	0,31	7,00	0,05	...	89,73	1,52	0,61	4
K00846	0	1	1	1	0	...	K00846	0,23	0,05	0,31	7,00	0,05	...	76,09	1,29	0,37	4
K00847	0	1	1	0	0	...	K00847	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	247,14	4,19	2,07	5
...
K34421	0	1	1	0	0	...	K34421	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	26,38	0,45	-1,16	1
K34547	0	1	1	0	0	...	K34547	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	47,37	0,80	-0,32	3
K30949	0	1	1	1	0	...	K30949	0,23	0,05	0,31	7,00	0,05	...	32,31	0,55	-0,87	2
K32209	1	1	1	1	0	...	K32209	4,33	0,05	0,31	7,00	0,05	...	69,01	1,17	0,23	3
K35994	0	1	1	0	0	...	K35994	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	38,25	0,65	-0,63	3
K32521	0	1	1	0	0	...	K32521	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	50,69	0,86	-0,22	3
K27793	0	1	1	0	0	...	K27793	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	68,76	1,17	0,22	3
K33300	1	1	1	0	0	...	K33300	4,33	0,05	0,31	0,14	0,05	...	30,23	0,51	-0,97	2
K33301	0	1	1	0	0	...	K33301	0,23	0,05	0,31	0,14	0,05	...	51,78	0,88	-0,19	3
K34538	0	1	0	0	0	...	K34538	0,23	0,05	3,21	0,14	0,05	...	95,52	1,62	0,70	4
KOJI-BO «1»	15	76	61	10	4	...	KOJI-BO «1»	1,5	76	61	10	4
KOJI-BO «0»	65	4	19	70	76	...	KOJI-BO «0»	65	4	19	70	76
«BEC» «1»	65/15	4/76	19/61	70/10	76/4	...	«BEC» «1»	4,33	0,05	0,31	7,00	19,0
«BEC» «0»	15/65	76/4	61/19	70/10	4/76	...	«BEC» «0»	0,23	19,0	3,21	0,14	0,05

Предлагаемый способ классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования основан на принципе «взвешивания» признаков в зависимости от частоты их встречаемости (Смирнов, 1969; 1971). Метод Е.С.Смирнова (1969) был создан для оценки степени сходства между таксонами и широко используется в систематике. По Смирнову, признаки таксонов не являются равновесными, так как бывают признаками редкими и часто встречающимися. Факт совпадения редких признаков у таксонов следует считать более информативным, чем сходство по часто встречающимся характеристикам. Смирнов предложил рассчитывать «коэффициент отношения» таксонов как усредненное значение весов всех признаков сравниваемых между таксонами: чем больше совпадающих редких признаков, тем выше коэффициент отношения. Следуя той же логике, возможно рассчитать коэффициент отношения таксона к самому себе (Тхх), который фактически показывает степень оригинальности таксона. Наименьшее значение Тхх должно быть у таксонов «ординарных», обладающих набором часто встречающихся признаков и принадлежащих некоему ядру, которое предполагается в данной группе. Максимальное значение Тхх присуще «оригинальным» таксонам, сочетающим наиболее редко встречаемые признаки.

Принцип Смирнова вполне может быть применим к изучаемой группе образцов (популяций), происходящих из одного эколого-географического региона, которые необходимо сравнить между собой по их генетическим характеристикам, выявленным, например, с помощью маркеров AFLP. Чем больше в образце генотипов с редкими для данного региона аллелями AFLP, тем выше степень его оригинальности (специфичности) в системе популяций региона. В интерпретации генофонда это может означать, что в одном собранном образце преобладают генотипы наиболее характерные для данной местности, а в другом образце, удалось «поймать» редкие генотипы, нехарактерные для местной среды обитания, но тем не менее сохраняемые в популяции в качестве резерва изменчивости. Таким образом, каждая популяция может быть охарактеризована по степени ее генетической оригинальности в системе местного генофонда.

Принцип расчета коэффициента генетической оригинальности популяции продемонстрирован на примере выборки из 80 сорнополевых и дикорастущих популяций, а также местных возделываемых сортов *V. sativa*, собранных из Поволжья и Волго-Вятского региона. 59 AFLP-фрагмента оказались полиморфными в данной выборке. Для каждого из AFLP-фрагментов был рассчитан «вес» его присутствия (1) и отсутствия (0) у каждого образца, на основании частоты встречаемости фрагмента в изучаемой выборке (табл. 1). Далее, исходная матрица присутствия-отсутствия AFLP-фрагментов в образцах была замещена матрицей соответствующих «взвешенных» значений. На конечном этапе «веса» всех AFLP-фрагментов были суммированы для каждой популяции, полученная сумма разделена на общее число проанализированных AFLP-фрагментов. В результате, каждой популяции был присужден индекс, коэффициент генетической оригинальности (КГО), отражающий усредненное значение весов присутствия всех AFLP-фрагментов, полиморфных в данной выборке (табл. 1: столбец, выделенный жирным шрифтом). Следующая задача заключалась в том, чтобы оценить, какие именно значения КГО могут считаться достоверно низкими или, наоборот, высокими для данной выборки, другими словами, как классифицировать популяции в соответствии с их КГО.

Полученные для 80 популяций значения КГО подчинялись логнормальному распределению. Отсюда следует, что их логарифмы распределены приблизительно нормально. В соответствии со свойствами нормального распределения, значения КГО, которые группируются вокруг средней арифметической в интервале одного среднеквадратического отклонения, присущи образцам, сочетающим редкие и часто встречающиеся аллели в пропорции, характерной для 68% наблюдений. Более высокие значения КГО отражают повышенное присутствие редких аллелей. Соответственно, минимальные значения КГО имеют образцы, в которых редкие аллели практически не встречаются. Наиболее важными параметрами выборки, в контексте задач нашего анализа, являются параметры дисперсии наблюдений: минимум, максимум, 25-й и 75-й процентиля, а также 5-й и 95-й процентиля, представляющие собой крайние точки данных. С помощью этих параметров, всю выборку 80 значений КГО, на основании распределения их логарифмов, можно подразделить на 5 интервалов, отражающих последовательное увеличение доли редких аллелей в образцах: 1) минимум – 5-й процентиль; 2) 5-й – 25-й процентиль; 3) 25-й – 75-й процентиль; 4) 75-й – 95-й процентиль; 5) 95-й – максимум. Это дает возможность оперировать не абсолютными значениями коэффициентов оригинальности, а их оценкой по 5-бальной шкале, так как это принято в дескрипторах оценочных баз данных коллекций генных банков для многих признаков (Международный..., 1985).

Наибольший интерес представляют популяции двух крайних интервалов. Популяции первого интервала практически не содержат редких аллелей. Такие популяции можно рассматривать в качестве наиболее типичных для региона образцов, представляющих собой базовый генофонд. В коллекциях генных банков эти образцы заслуживают особого внимания при создании так называемых «стержневых» коллекций (core-collection). Особый интерес представляют также популяции с максимальными значениями КГО, попадающие в пятый интервал, содержащие наибольшее число редких, нетипичных для региона аллелей. Предложенный

метод может быть осуществлен с привлечением любого типа молекулярных маркеров; практическим результатом его применения является классификация внутривидового разнообразия, сохраняемого в коллекциях генбанков по 5-бальной шкале, которая может быть отражена в дескрипторах паспортных баз данных и используется для оптимизации работы с коллекцией.

Литература

- Международный классификатор СЭВ вида *Vicia sativa* L. Л., 1985. 48 с.
 Смирнов Е.С. Таксономический анализ. М., 1969. 187 с.
 Смирнов Е.С. О кодировании признаков для таксономического анализа // Журн. общ. биол. 1971. Т.32. № 2. С. 224–228.
 Dice L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species // Ecology. 1945. V. 26. P. 297–302.
 Jaccard P. Nouvelles recherches sur la distribution florale // Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat. 1908. V. 44. P. 223–270
 Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. 1972. V. 106. P. 283–292.
 Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76 P. 5269–5273.
 Sneath P.H.A., Sokal R.R. Numerical Taxonomy. San Francisco, 1963. 573 p.

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ ЧИСЕЛ ХРОМОСОМ У ВИДОВ ФЛОРЫ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА И ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ В 2006 – 2008 ГГ.

Пробатова Н.С.¹, Рудыка Э.Г.¹ Кожевникова З.В.¹, Кожевников А.Е.¹, Баркалов В.Ю.¹, Шатохина А.В.², Чепинова В.В.³, Гнутиков А.А.³, Селедец В.П.⁴

¹Владивосток, Биолого-почвенный институт ДВО РАН,

²Благовещенск, Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН,

³Иркутск, АНО «Байкальский исследовательский центр», Иркутский госуниверситет,

⁴Владивосток, Тихоокеанский институт географии ДВО РАН

В 2006–2008 гг. проводятся дальнейшие кариологические исследования флоры Дальневосточного региона России (преимущественно – южной половины: Амурской и Еврейской автономной областей, Хабаровского и Приморского краев, Сахалинской обл.), они являются продолжением многолетнего изучения чисел хромосом флоры российского Дальнего Востока (РДВ) в Лаборатории высших растений БПИ ДВО РАН. С этого же времени начался, по-существу, и новый этап кариологических исследований флоры Байкальской Сибири (Республика Бурятия, Иркутская и Читинская области), возобновившихся, после длительного перерыва. Ранее в нашей группе были подготовлены кадры для педагогических и научно-исследовательских учреждений РДВ и Восточной Сибири (гг. Уссурийск, Хабаровск, Благовещенск, Иркутск).

Числа хромосом нами исследуются с наибольшим охватом таксономического разнообразия флоры регионов. В указанный период продолжались накопление нового материала по числам хромосом, учет опубликованных данных; изучение распределения чисел хромосом и уровней плоидности у видов в различных таксономических, эколого-биологических и хорологических группах (кариотаксономический и кариогеографический анализы). Полученные числа хромосом аннотируются, сообщаются сведения об ареалах исследованных видов, эндемизме, составляются эколого-фитоценологические характеристики, а числа хромосом оцениваются в свете имеющихся литературных данных.

Нами и коллегами в этот период публиковались как оригинальные данные по числам хромосом флоры РДВ, так и материалы обзорного или аналитического характера.

В 2006–2008 гг. были опубликованы в наших статьях первые данные по числам хромосом для следующих видов:

Bothriospermum tenellum, *Delphinium korshinskyanum*, *Geranium orientale*, *Poa arsenjevii*, *Polygonum liaotungense*, *Potentilla amurensis*, *Primula fistulosa*, *Rorippa cantoniensis*, *Rumex amurensis*, *Saxifraga serotina*, *Scrophularia amgunensis*, *Symphyllocarpus exilis*, *Tripleurospermum limosum*, *Truellum hastatosagittatum* – из российской части бассейна Амура и из Приморья (Пробатова, Рудыка, Шатохина и др., 2006);

Cerastium furcatum, *Chenopodium bryoniifolium*, *Ch. vachelii*, *Cleistogenes hancei*, *Leontopodium leontopodioides*, *Mazus stachydifolius*, *Papaver sokolovskajae*, *Parietaria micrantha*, *Polygonum fusco-ochreatum*, *Potentilla rupifraga*, *Suaeda glauca*, *Swertia veratroides* – из Приморского края, Приамурья и Магаданской обл. (Пробатова, Рудыка, Павлова и др., 2006);

Carex ussuriensis, *Caulinia tenuissima*, *Dianthus woroschilovii*, *Dysophylla yatabeana*, *Heteropappus meyerendorffii*, *Hierochloë helenaе*, *Linaria melampyroides*, *Lycopus hirtellus*, *Minuartia laricina*, *Neottia papilligera*, *Neoussuria olgae*, *Potentilla rugulosa*, *Pulsatilla archarensis*, *Ranunculus turczaninovii*, *Rhamnus ussuriensis*,

Scutellaria dependens, *S. krusevii*, *S. ternejica* – из заповедников Приморского края и Приамурья (Пробатова, Рудыка, Баркалов и др., 2006);

Arabis japonica, *Artemisia punctigera*, *Calamagrostis urelytra*, *Callianthemum sachalinense*, *Cerastium sugawarae*, *Dianthus sachalinensis*, *Lonicera tolmachevii*, *Melandrium sachalinense*, *Myosotis sachalinensis*, *Oxytropis austrosachalinensis*, *O. helenae*, *O. sachalinensis*, *Polemonium schizanthum*, *Ranunculus hulthenii*, *Rubus pseudochamaemorus*, *Scrophularia grayana*, *Senecio dubitabilis* – с Сахалина, о-ва Монерон и Курильских островов (Пробатова, Barkalov, Rudyka et al., 2006);

Aconitum saxatile, *Allium prokhanovii*, *Cardamine lyrata*, *C. manshurica*, *Chrysanthemum sichotense*, *Enemion raddeanum*, *Festuca blepharogyna*, *Gagea pauciflora*, *Inula linariifolia*, *Rhaponticum satzyperovii*, *Saussurea vyschinskii*, *Teucrium ussuriense*, *Viola diamantiaca* – из Приморского края и Читинской обл. (Пробатова, Рудыка, Кожевников и др., 2007);

Astragalus sericeocanus, *Bromopsis korotkiji*, *Deschampsia altaica*, *D. turczaninowii*, *Dimorphostemon pectinatus*, *Puccinella interior*, *Sparganium rothertii* – из Байкальской Сибири (Пробатова, Гнутиков, Рудыка и др., 2008).

Кроме того, для целого ряда видов были установлены новые (не известные ранее) числа хромосом. Многие виды были исследованы впервые на территории Российской Федерации (РФ) или российского Дальнего Востока.

Особое внимание уделялось видам редким и эндемичным (для многих из них числа хромосом еще не были известны). Так, был исследован эндем Восточного Саяна *Poa ircutica*, опушечно-лесной и горнолуговой вид, малоизвестный (во всех отношениях), вид неясного систематического положения и родства, а также – эндем побережья Байкала *Deschampsia turczaninowii*. Впервые число хромосом установлено у редчайшего «краснокнижного» злака с высокогорий Сихотэ-Алиня *Festuca blepharogyna* из подрода *Leucopoa*, виды которого представлены преимущественно в горных системах Азии. Для другого «краснокнижного» вида злака, оригинального гидрофильного однолетника – эфемера *Dimeria neglecta* подтверждено (впервые – на континентальном побережье Приморского края) диплоидное число хромосом $2n=14$, нехарактерное для трибы сорговых *Andropogoneae*. Впервые в науке установлены числа хромосом для двух эндемичных видов камнеломки: один – из бассейна р. Буреи (*Saxifraga korshinskii*, $2n = 20$), откуда был также исследован эндемичный вид одуванчика *Taraxacum lineare* ($2n = 24$), а другой – из Норского заповедника, с р. Селемджи, бассейн р. Зеи (*S. selemdzensis*, $2n = 26$) (Шатохина, 2007).

В рассматриваемый период была издана первая книга из серии, посвященной кариологии флоры отдельных субрегионов РДВ: «Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, кариотаксономические и фитогеографические комментарии» (Пробатова, Баркалов, Рудыка, 2007). Это – полный свод и обобщение результатов всего периода изучения чисел хромосом флоры Сахалина, Монерона и Курильских островов. Основная часть книги отведена Аннотированному конспекту из 536 видов, исследованных на местном материале, он включает для каждого вида числа хромосом, эколого-географическую характеристику, ареалы и распространение на Сахалине и Курильских островах; для многих видов даны кариотаксономические и фитогеографические комментарии. Исследование флоры островной области продолжается.

Изучение хромосомных чисел у видов синантропной флоры, включающей адвентивные, или инвазивные, виды и апофиты (виды местной флоры), было предпринято нами в плане кариологического изучения сосудистой флоры РДВ, с ее последующим анализом (Пробатова, 2007а). На РДВ исследованы числа хромосом у 411 синантропных видов, наибольшее количество видов исследованы в семействе злаков *Poaceae* (84 вида); вместе с *Asteraceae*, это наиболее крупные семейства флоры РДВ. Для более 55% видов синантропных видов злаков на РДВ ныне имеются данные по числам хромосом на региональном материале.

Первые (разрозненные) сведения о хромосомных числах сосудистых растений Амурской области (АО), которая расположена преимущественно в верхней части бассейна Амура, появились в начале 1970-х гг.; целенаправленно же флору АО стали изучать в кариологическом отношении лишь в последнее время. Территория АО «исчерчена» границами ареалов многих видов растений. Изученность флоры АО ныне составляет до 300 видов с числами хромосом, определенными на местном материале, и по этому показателю она сопоставима с флорой Курильских островов. Наибольшее количество определений чисел хромосом в АО относятся, в первую очередь, к крупнейшему семейству злаков *Poaceae*, а также к *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae*, *Apiaceae* (Шатохина, 2006, 2007; Пробатова, Шатохина, Рудыка, 2007). В целом же для флоры бассейна Амура (российская часть) ныне имеются данные по числам хромосом для более чем 500 видов сосудистых растений. Степень кариологической изученности флоры в бассейне Амура сопоставима с Сахалином и Курилами, взятыми вместе.

Для многоаспектного анализа кариологических данных, который мы понимаем как проведение анализа чисел хромосом в плане таксономических и филогенетических отношений видов и групп, биогеографии, дифференциации и эволюции таксонов в избранных (модельных) семействах (прежде всего – *Poaceae*), выявления эволюционных тенденций в различных группах флоры, выявления кариологического полиморфизма от-

дельных таксонов, нами был взят – в качестве модельного региона – российский Дальний Восток, где флора представляется наиболее изученной в кариологическом отношении. Этой части нашего исследования посвящена статья «Хромосомные числа в семействе *Poaceae* и их значение для систематики, филогении и фитогеографии (на примере злаков Дальнего Востока России)» (Пробатова, 2007б). Ныне данные по числам хромосом с территории российского Дальнего Востока (РДВ) имеются для 352 видов злаков, что составляет около 76% от общего числа видов злаков флоры РДВ. Еще около 50 видов злаков были исследованы в кариологическом отношении за пределами РДВ. Однако у 67 видов злаков флоры РДВ числа хромосом пока не известны науке. В упомянутой работе показаны филогенетические отношения у представителей крупных родов злаков РДВ и основные направления их эволюции. Преобладающей тенденцией у злаков выступает полиплоидизация, и чаще всего – при $x=7$, которая характерна для всех прогрессирующих родов в этом регионе. Показано значение гибридогенеза в эволюции агрофлоры РДВ. Опубликован аннотированный конспект видов злаков РДВ, с числами хромосом (по субрегионам) и номерами исследованных образцов (что дает представление о степени изученности каждого вида), для еще не исследованных на РДВ видов приведены ожидаемые значения чисел хромосом.

Ныне нами подготовлены к публикации новые определения чисел хромосом с Дальнего Востока и Восточной Сибири, в том числе для ряда редких и слабо изученных видов, а также некоторых сорных и ушедших из культуры; впервые числа хромосом установлены у целого ряда таксонов, среди них – *Agrostis pauzhetica*, *Calamagrostis x andrejewii*, *Cardamine sachalinensis*, *Chimaphila japonica*, *Elymus franchetii*, *Eragrostis imberbis*, *Leymus littoralis*, *Minuartia barkalovii*, *Oxytropis calcareorum*, *Persicaria extremorientalis*, *Poa golubii*, *P. pruinosa*, *P. sabulosa*, *Popoviocodonia stenocarpa*, *Potentilla discolor*, *Ranunculus pseudograndis*, *Rhinanthus aestivalis*, *Silene macrostyla*, *Siphonostegia chinensis*, *Symplocarpus egorovii*, *Tephrosieris gurensis*.

В Лаборатории высших растений завершается подготовка справочного издания по числам хромосом сосудистой флоры РДВ, полученным в нашем регионе за последние более чем 20 лет, на английском языке («*Index to vascular plant chromosome numbers from the Far East of Russia, 1987 – 2008*»).

Работа выполняется при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований: проекты №№ 04-04-49750, 05-05-64061, 07-04-00610.

Литература

Пробатова Н.С. Числа хромосом как источник информации при изучении синантропной флоры (на примере российского Дальнего Востока) // Синантропизация растений и животных (Матер. Всеросс. конф. с международн. участием: Иркутск, 21–25 мая 2007 г.). Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН им. В.Б. Сочавы. 2007а. С. 22–25.

Пробатова Н. С. Хромосомные числа в семействе *Poaceae* и их значение для систематики, филогении и фитогеографии (на примере злаков Дальнего Востока России) // Комаровские чтения. Вып. 55. Владивосток: Дальнаука, 2007б. С. 9–103.

Пробатова Н. С., Баркалов В. Ю., Рудыка Э. Г. Кариология флоры Сахалина и Курильских островов. Числа хромосом, таксономические и фитогеографические комментарии. Владивосток: Дальнаука, 2007. 392 с.

Пробатова Н. С., Гнутиков А. А., Рудыка Э. Г., Чепиного В. В. Числа хромосом видов растений из Байкальской Сибири // Бот. журн. 2008. Т. 93. № 1. С. 162–181.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Баркалов В. Ю., Нестерова И. А., Кудрин С. Г., Чубарь Е. А. Числа хромосом сосудистых растений из заповедников Приморского края и Приамурья // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 7. С. 1117–1134.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Кожевников А. Е., Кожевникова З. В., Прокопенко С. В., Баркалов В. Ю. Числа хромосом видов растений из Читинской области и Приморского края // Бот. журн. 2007. Т. 92, № 8. С. 1255–1273.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Павлова Н. С., Верхолат В. П., Нечаев В. А. Числа хромосом видов растений из Приморского края, Приамурья и Магаданской области // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 3. С. 491 – 509.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Шатохина А. В. Прогресс в изучении чисел хромосом сосудистой флоры Российского Дальнего Востока в 2000–2006 гг. // Растения в муссонном климате. IV. Матер. Четвертой международн. конфер. «Растения в муссонном климате». (Владивосток, 10–13 октября 2006 г.). Ред. С.Б. Гончарова. Владивосток: БСИ ДВО РАН, 2007. С. 11–29.

Пробатова Н. С., Рудыка Э. Г., Шатохина А. В., Баркалов В. Ю., Крюкова М. В., Цыренова Д. Ю. Числа хромосом видов флоры Приморского края и Приамурья // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 5. С. 785–804.

Пробатова Н. С., Шатохина А. В., Рудыка Э. Г. Кариологическое изучение флоры Амурской области. Семейство *Poaceae* // Матер. VIII Дальневост. конфер. по заповедному делу (Благовещенск, 1–4 октября 2007 г.). Т. II. Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2007. С. 5–11.

Шатохина А. В. Числа хромосом некоторых представителей флоры Амурской области // Бот. журн. 2006. Т. 91, № 3. С. 487–490.

Шатохина А. В. Числа хромосом некоторых редких для Амурской области видов сосудистых растений // Бот. журн. 2007. Т. 92, № 7. С. 1082–1086.

Probatova N. S., Barkalov V. Yu., Rudyka E. G., Pavlova N. S. Further chromosome studies on vascular plant species from Sakhalin, Moneron and Kurile Islands // Biodiversity and Biogeography of the Kuril Islands and Sakhalin / Ed. H. Takahashi and M. Ohara. Vol. 2. Hokkaido University Museum, Japan. 2006. P. 93–110.

РОД *PAEONIA* (*PAEONIACEAE*) В РОССИИ И НА СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ: РЕВИЗИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ КАРИОСИСТЕМАТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ СИСТЕМАТИКИ

Пунина Е.О., Мачс Э.М., Мордак Е.В., Мякошина Ю.А., Родионов А.В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

Дикорастущие виды пионов издавна вызывали и продолжают вызывать большой интерес у ботаников и садоводов. По сведениям разных авторов во флоре России и сопредельных территорий (республики бывшего СССР) насчитывается от 6 до 18 видов пионов (в России – от 5 до 12). Все виды *Paeonia* вследствие своей декоративной и лекарственной ценности являются крайне уязвимыми и нуждаются в охране. Популяции большинства видов пионов очень редки и, как правило, малочисленны. В Красную Книгу России занесено только 7 видов, что на наш взгляд связано с недостаточной изученностью рода и отсутствием надежных морфологических характеристик для разграничения видов. Мы провели ревизию видового состава представителей этого рода в России и на сопредельных территориях с привлечением методов кариосистематики и молекулярной систематики, что позволило нам уточнить видовой состав рода, его систематику, степень родства ряда видов и некоторые особенности их эволюции.

Мы исследовали гербарный материал, хранящийся в Гербариях: LE, WIR, MW, МНА, ТВИ, W, КВАИ, Кавказского государственного заповедника (г. Майкоп), Тебердинского государственного биосферного заповедника (пос. Теберда), а также провели наблюдения за растениями в природе и в живых коллекциях Ботанических садов Санкт-Петербурга, Москвы, Тбилиси, Новосибирска, Барнаула и Перкальского арборетума (ПА) (г. Пятигорск).

Очевидно, что в гербарии при сушке и длительном хранении образцов многие виды пионов не сохраняют свои признаки. В частности, у видов с беловатыми, кремовыми и желтыми цветками окраска лепестков становится однообразно желто-бурой. Изменяются при гербаризации также некоторые признаки листьев. Все это является основным источником трудностей и приводит разных исследователей к противоречивым выводам.

Для молекулярно-филогенетического исследования представителей видов рода *Paeonia* L. были секвенированы районы ITS1-5.8S rDNA-ITS2 и осуществлен их сравнительный анализ. Исследованы 27 образцов, собранных как в природе, так и в живых коллекциях ботанических садов БИН РАН (Санкт-Петербург), ЦСБС РАН (Новосибирск), ПА (Пятигорск). 3 образца были взяты из гербарной коллекции МНА. Последовательности ДНК ITS1-5.8S rDNA-ITS2 у *P. tomentosa*, *P. oreogeton*, *P. daurica*, *P. caucasica*, *P. anomala*, *P. anomala* x *P. tenuifolia*, *P. wittmanniana*, *P. mlokosewitschii*, *P. x litvinskajae* секвенированы нами впервые. Проанализированы также данные, взятые из GeneBank.

Показано, что ITS-последовательности всех видов рода *Paeonia* очень сходны между собой, различаясь лишь относительно небольшим количеством замен, так что р-расстояние между самыми несхожими видами не превышает 3,1%. Выравнивание последовательностей не представляет никаких трудностей, т.к. у всех видов, практически отсутствуют индели (вставки и утраты нуклеотидов). Последовательности ITS1-5.8S rDNA-ITS2, относящиеся к разным экземплярам одного вида, взятым из разных географических точек, идентичны или отличаются не более чем по 1–2 нуклеотидным заменам

Используя программу MEGA3.1, при помощи различных методов мы построили ряд филогенетических деревьев, включив в анализ также последовательности ДНК из GeneBank (рис. 1). Модели филогенетических деревьев, построенные методами «минимальной эволюции» (ME), «максимальной парсимонии» (MP) и «ближайшего соседа» (NJ) не имели принципиальных топологических различий. Три основные клады совпадают с традиционным делением рода *Paeonia* на 3 секции (Stem, 1946): Moutan DC, Paeon DC и *Opaeia* Lindl. Клада, соответствующая секции *Paeon*, разделяется на две примерно равные по количеству видов субклады. В одну из них входят такие виды флоры России как *P. anomala*, *P. hybrida*, *P. lactiflora*, *P. tenuifolia*, *P. arietina*. Эта субклада с высокой поддержкой бутстрэп-индекса также может быть разделена на две: группы *P. anomala*-*P. lactiflora* и *P. hybrida*-*P. tenuifolia*-*P. arietina*. Другая субклада, включающая все остальные виды, достаточно однородна и выделение внутри нее каких-либо достоверных родственных групп оказалось весьма затруднительно.

При визуальном анализе выровненных последовательностей ДНК можно видеть, что последовательно-сти целого ряда видов в определенных позициях имеют довольно много двузначно читаемых нуклеотидов, так называемых полиморфных сайтов (PS). Эта особенность района ДНК ITS1-5.8S rDNA-ITS2 у пионов ранее была отмечена также в работе Sang et al. (1995). Принято считать, что многократно повторенные в геноме последовательности ДНК (к каковым относится и данный район) изменяются по принципам так называемой «концертной эволюции», которая приводит к гомогенизации этих последовательностей. Однако у гибридогенных видов эта закономерность может быть нарушена, и в гибридных геномах сохраняются оба пула повторяющихся последовательностей, свойственных родительским видам. Как предположили Sang et al. (1995), эта ситуация проявляется как раз у пионов, и анализ встречаемости PS у разных видов позволил этим авторам предложить схему сетчатой эволюции в роде *Paeonia*, когда кроме процессов дивергенции видов, большое значение имеют процессы последующей межвидовой гибридизации.

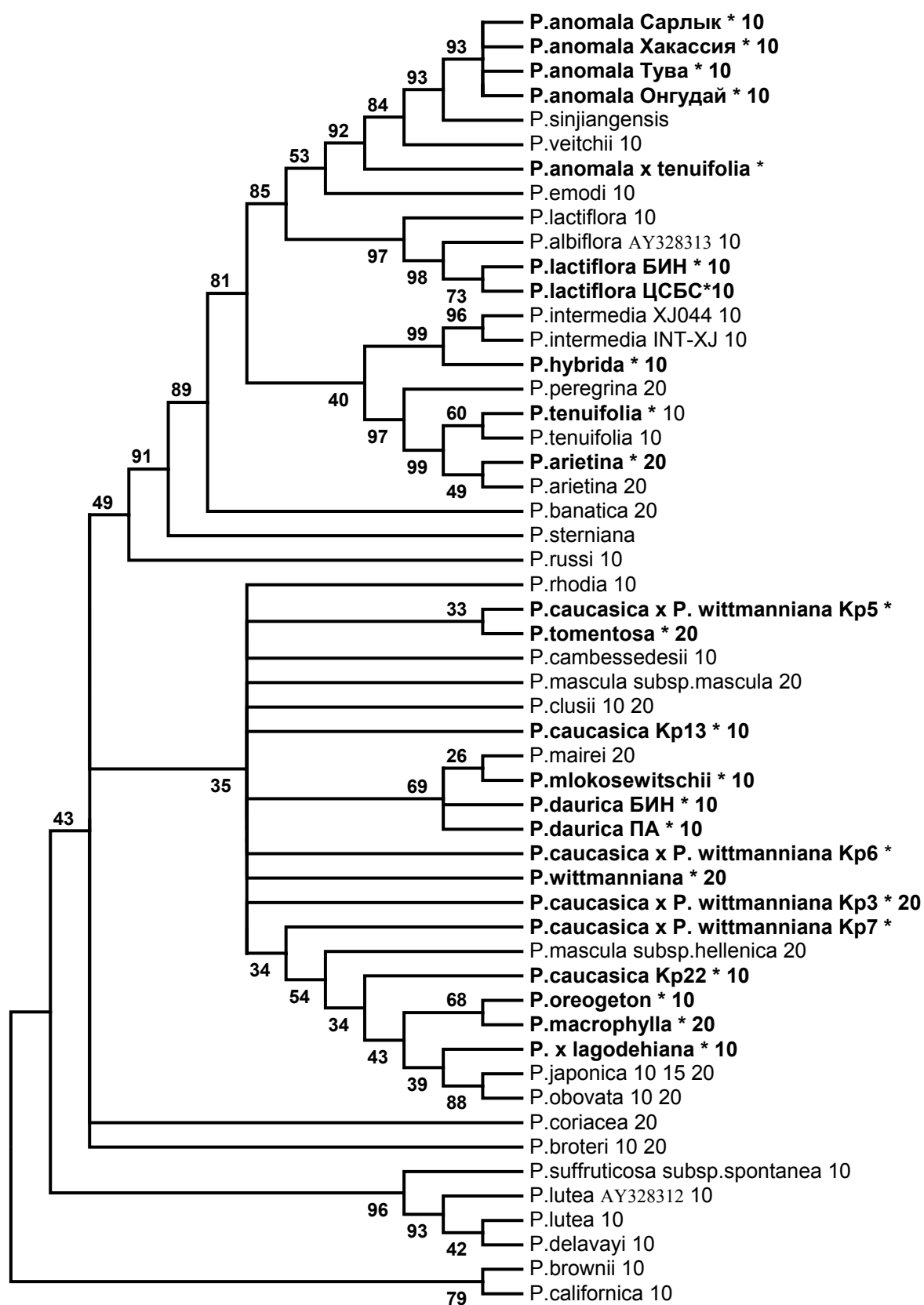


Рис. 1. Филогенетическое древо видов рода *Peonia*, построенное методом NJ («ближайшего соседа»). Виды, последовательности которых секвенированы нами, обозначены * и жирным шрифтом. После названия вида указано его хромосомное число.

Sang et al. (1995) предположили, что виды с минимальным количеством PS имеют геномы, возникшие только в результате дивергенции, в то время как геномы других видов произошли в результате разных вариантов межвидовой гибридизации предыдущих. Интересно, что это разделение, как было бы логично ожидать, не совпадает с разделением на диплоидные и тетраплоидные виды. Тем не менее, гипотезу Sang et al. (1995) можно признать верной, и это наиболее ярко иллюстрирует анализ секвенированной нами последовательности межвидового гибрида *P. anomala* x *P. tenuifolia*. В этом случае в 11 из 13 переменных позиций, где последовательности *P. anomala* и *P. tenuifolia* имеют различные, но однозначно читаемые нуклеотиды, последовательность ДНК гибрида демонстрирует диморфные нуклеотиды. Один из таких локусов приходится даже на консервативный район гена 5.8S rDNA. Следуя гипотезе Sang et al. (1995), мы можем полагать, что такие диплоидные виды флоры России и сопредельных территорий, как *P. albiflora*, *P. anomala*, *P. tenuifolia*, *P. hybrida*, *P. daurica*, *P. mlokosewitschii* и *P. obovata* произошли в результате дивергенции, в то время как формирование диплоидов *P. caucasica* и *P. oreogeton* сопровождалось процессами межвидовой гибридизации.

Дополнительно мы провели кариологическое и молекулярно-цитогенетическое изучение некоторых представителей рода *Paeonia*, которое показало, что рисунок дифференциальной исчерченности хромосом пионов, выявляемый С-методом, весьма однообразный (Пунина, 1989). При помощи окрашивания нуклеотидспецифичными флуорохромами исследован нуклеотидный состав гетерохроматиновых сегментов хромосом. Показано, что хромосомы пионов несут три типа гетерохроматиновых сегментов: 1) АТ-обогащенные сегменты, выявляющиеся либо после применения контрастирующего агента Актиномицина D и длительного (более 1–2 мес.) хранения цитологических препаратов, либо после денатурации и последующей ренатурации препаратов, осуществляемых в ходе процедур при *in situ* гибридизации. Эти сегменты за редким исключением локализованы в прицентромерных районах большинства хромосомных пар. Межвидовые различия выражены слабо и проявляются только в размерах этих сегментов. 2) GC-обогащенные сегменты, сопряженные с районами ядрышковых организаторов (NOR). Выявляются в районах NOR в прителомерных и спутничных районах многих хромосом. Межвидовые различия выражены в количестве и хромосомной локализации этих сегментов. 3) GC-обогащенные сегменты, не сопряженные с NOR. Изредка выявляются в интеркалярных районах на отдельных парах хромосом у некоторых видов. Сравнение рисунков хромосомной исчерченности, полученных методом С-окрашивания и окрашивания нуклеотидспецифичными флуорохромами показывает, что нуклеотидспецифичные флуорохромы не выявляют каких-либо дополнительных гетерохроматиновых сегментов хромосом.

В качестве других хромосомных маркеров мы использовали гены 5S и 45S рРНК, которые были картированы методом *in situ* гибридизации (FISH) на хромосомах *P. lactiflora*, *P. anomala* и *P. hybrida*. Показано, что кариотипы всех трех видов хорошо различаются по количеству и локализации кластеров генов 45S и особенно 5S рРНК. Так, у *P. lactiflora* выявляется 2 кластера 5S рРНК на коротком плече 2-й пары хромосом, у *P. anomala* – 4 кластера также на коротком плече 2-й пары, а у *P. hybrida* – 3 кластера, 2 из которых расположены на коротком плече 2-й пары, а 1 – на коротком плече 4-й пары хромосом. Таким образом, картирование генов 5S и 45S рРНК является наиболее надежным инструментом для изучения эволюционных преобразований кариотипов у видов рода *Paeonia*.

В результате комплексного морфологического, кариосистематического и молекулярно-систематического исследования нами установлено, что род *Paeonia* на территории России представлен 12 видами (*P. lactiflora* Pall. (= *P. albiflora* Pall), *P. anomala* L., *P. tenuifolia* L., *P. hybrida* Pall. (= *P. intermedia* C.A.M.), *P. arietina* G. Anderson, *P. mlokosewitschii* Lomak., *P. caucasica* (Schipcz.) Schipcz., *P. wittmanniana* Hartwiss ex Lindl., *P. macrophylla* (Albov) Lomak., *P. oreogeton* S. Moore, *P. obovata* Maxim., *P. japonica* Miyabe et Takeda) и одним межвидовым гибридом *Paeonia* x *litvinskajae* Mordak et Punina nothosp. nov. (*P. wittmanniana* Hartwiss ex Lindl. x *P. caucasica* (Schipcz.) Schipcz.).

Для сопредельных территорий мы указываем еще два вида (*P. daurica* Jacks., Крым и *P. tomentosa* (Lomak.) N. Busch (Азербайджан, Тальш) и три межвидовых гибрида (*P. x chamaeleon* Troitz. (= *P. x lagodechiana* Kem.-Nath., *P. mlokosewitschii* Lomak. x *P. caucasica* (Schipcz.) Schipcz., Грузия), *P. x majko* Ketzch. (*P. tenuifolia* L. x *P. caucasica* (Schipcz.) Schipcz., Грузия) и *P. x saundersii* Stebb. (*P. tenuifolia* L. x *P. daurica* Andr., Крым).

Мы предлагаем дополнительно внести в Красную книгу России такие редкие виды как *P. arietina* G. Anderson, *P. mlokosewitschii* Lomak. и *P. macrophylla* (Albov) Lomak, которые впервые выявлены нами на территории России.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №05-04-48184 и 06-04-48399, и Программы «Динамика генофондов».

Литература

Пунина Е.О. Кариологическое изучение кавказских представителей рода *Paeonia* L. (*Paeoniaceae*) при помощи дифференциального окрашивания хромосом методом Гимза // Ботан. журн. 1989б. Т. 74. № 3. С. 332–339.

Sang T, Crawford DJ, Stuessy TF. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution // Proc Nat. Acad. Sci. USA. 1995. Vol. 92. P. 6813–6817.

Stern F.C. A study of genus *Paeonia*. London, 1946, 246 p.

О ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЯХ В ТРИБЕ PHALARIDEAE

Райко М.П., Глускер Г.М., Родионов А.В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, plantcaryo@gmail.com

Целью нашего исследования было изучение изменчивости последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) генов 45S рРНК, генов 5.8S рРНК и вторичной структуры их транскриптов для выяснения филогенетических отношений *Anthoxanthum*, *Hierochloe* и *Phalaris* и определения их положения в семействе Poaceae.

Основные объекты нашего исследования – представители родов *Anthoxanthum*, *Hierochloe* и *Phalaris* – встречаются практически во всех умеренных и суб(ант)арктических областях земного шара. В недавнем прошлом их было принято относить к трибе Канареечниковые – *Phalarideae* Kunth (Цвелев, 1976) сем. Злаки (*Poaceae*). Однако в последнее время некоторые систематики предлагают не выделять как таковую трибу Канареечниковые, а объединить ее с *Aveneae*. Другие относят вышеупомянутые рода к трибам *Agrosteae* A. Br. (Рожевиц, 1946), *Phleaeae* Dum. (Федоров и др., 1974) или *Pogae* R.Br. (Grass Phylogeny Working Group, 2001).

В ряде работ (Schouten, Veldkamp, 1985, Soreng 2003) высказывалось предположение о необходимости объединения *Hierochloe* и *Anthoxanthum* в один род, так как признаки, используемые для разделения этих родов (тип развития двух нижних цветков) в ряде обработок имеют промежуточные состояния, и описано большое количество промежуточных форм. Попытки использовать в качестве абсолютного критерия основное хромосомное число не привели к успеху, так как были обнаружены виды, морфологически относящиеся к *Anthoxanthum*, но имеющие ОХЧ 7 (*Hierochloe davidsei*, 2n=56, Pohl, 1972). К тому же это достаточно трудоемкий метод, так как семена зубровки имеют очень низкую фертильность.

В ходе работы нами впервые были определены последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) и генов 5.8S рРНК ряда видов *Hierochloe*, *Anthoxanthum* и *Phalaris*, встречающихся на территории России. При анализе данных и построении филогенетических деревьев использовались также ITS-последовательности других представителей *Poaceae*, взятых из базы данных GenBank.

Было показано, что последовательности ITS *A. alpinum* и *A. odoratum* практически не различаются – р-расстояния по ITS1 и ITS2. между *A. alpinum* и *A. odoratum* не превышали 1,1%. Межвидовые отличия последовательностей ITS1 и ITS2 в роде *Hierochloe* варьировали от 1,4% (при сравнении *H. novae-zelandiae* и *H. equisetata*) до 4,5% (между *H. fusca* и *H. equisetata*). Отличие последовательностей новозеландских и алтайских видов *Hierochloe* при попарном сравнении составляло 1,9 – 3,0%.

Интересно, что новозеландский вид *Hierochloe fusca* оказался наиболее близок не к другим новозеландским видам (*H. novae-zelandiae* и *H. equisetata*) а к видам *H. alpina* (встречающейся только в Северном полушарии) и *H. bungeana* (Сибирь, Дальний Восток).

Анализ 5.8S рРНК показал, что от большинства исследованных *Aveneae Anthoxanthum* отличается 5 нуклеотидными заменами в переменном участке 5.8S рРНК, а *Hierochloe* – 3-мя заменами, две из которых общие для представителей этих двух родов. Таким образом, если отталкиваться от последовательностей 5.8S рРНК, для объединения Пахучеколосниковых с Овсяными нет оснований, нуклеотидный состав их 5.8S рРНК ближе к Мятликовым. В тоже время, исследованные виды *Anthoxanthum* и *Hierochloe* определенно отличались по последовательностям этого медленно изменяющегося гена.

Филогенетические деревья были построены методами объединения ближайших соседей (neighbor-joining) и минимальной эволюции с помощью пакета программ MEGA 3.1 (Kumar et al., 2003). На всех деревьях виды, относящиеся к *Hierochloe* и *Anthoxanthum*, располагаются в одной группе с бутстэп-индексом 100. Представители рода *Phalaris* – *P. canariensis* и *P. truncata* – группируются с представителями других триб – чаще всего с родом *Briza* (триба Мятликовые). р-расстояния между исследованными *Anthoxanthinae* и *Phalarinae* по участкам ITS1 и ITS2 составили от 15 до 21%, что указывает на целесообразность отнесения их к разным трибам.

При сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей *Anthoxanthum* и *Hierochloe* в кластере ITS1-5,8S рРНК-ITS2 были обнаружены 20 позиций, нуклеотидные замены в которых можно использовать в качестве генетических маркеров рода, наряду с основным хромосомным числом. Так, вид с неоднозначной морфологией *H. equisetata* Zotov, напоминающий *Hierochloe*, но с остистыми нижними цветковыми чешуями и женским верхним цветком с двумя редуцированными пыльниками, по обнаруженным позициям однозначно

относится к *Hierochloe*. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности разделения этих родов, и позволяют решить вопросы систематики видов *Anthoxanthum* и *Hierochloe* со спорной морфологией.

Работа финансировалась из средств гранта РФФИ 06-04-48399 и программой «Динамика генофондов».

Литература

- Рожевиц Р.Ю. Система злаков в связи с их эволюцией // Сб. науч. работ, выполненных за три года Великой Отечественной Войны 1941 – 1943. Л., 1946. С. 25 – 40.
- Цвелёв Н.Н. Злаки СССР. Л 1976.
- Цвелев Определитель сосудистых растений Северо-Западной России. СПб, 2000.
- Clayton W.D., Renvoize S.A. Genera Graminum. Grasses of the World // Kew Bull. Additional Series 13. 1986. HMSO, London.
- Grass Phylogeny Working Group / Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (*Poaceae*) // Annals of the Missouri Botanical Garden. 2001. Vol. 88. P. 373–430.
- Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment // Briefings in Bioinformatics. 2004. Vol. 5. P. 150–163.
- Pohl, R. W. New taxa of *Hierochloe*, *Pariana*, and *Triplasis* from Costa Rica // Iowa State J. Res. 1972 47: 71–78
- Schouten, Y., J. Veldkamp F.. A revision of *Anthoxanthum* including *Hierochloe* (Gramineae) in Malesia and Thailand // Blumea 1985. 30:319–351
- Watson L., Dallwitz M.J. The Grass genera of the World // CAB International. Wallingford. UK. 1992.

СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РОДА PINUS L. (PINACEAE ADANS.) НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ СЕМЯН

Семихов В.Ф., Арефьева Л.П., Новожилова О.А., Мишанова Е.В.

Москва, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, chemosyst@list.ru

Род *Pinus* L., крупнейший в сем. *Pinaceae* Adans., включает более 110 видов, широко распространенных в умеренной зоне и в горных областях субтропической зоны северного полушария. Как отмечают многие исследователи (Козубов, Муратова, 1986; Орлова, 2000 и др.), пожалуй, ни один род голосеменных не подвергался столь детальному таксономическому изучению и столь многочисленным ревизиям, как род *Pinus*. Однако в систематике и филогении рода *Pinus* остается много нерешенных вопросов. Так, в системе Critchfield, Little (1971) в роде *Pinus* принято три подрода: *Strobus*, *Pinus*, *Ducamporpinus*. Вместе с тем, по мнению ряда авторов (Арефьева и др, 2000) следует признать родовой статус *Strobus* и *Pinus*. Остается нерешенным вопрос о систематическом статусе монотипного подрода *Ducamporpinus*. На основании особенностей строения хвои его родовой статус был признан Тахтаджяном (1956), Бобровым (1983), Орловой, Аверьяновым (2004). Другие исследователи (Critchfield, Little, 1971; Frankis, 1988) не подтверждают самостоятельности этого рода. По данным изучения рибосомальной ДНК (последовательность ITS) *Pinus krempfii* располагается внутри секции *Strobus*, по мтДНК вид кластеризуется с *P. gerardiana* (Zhang, Li, 2004). На биохимические признаки были исследованы 55 видов, представляющие все 3 подрода (по Critchfield, Little, 1971). Это 1 вид подрода *Ducamporpinus* (*P. krempfii*), в подрode *Pinus* исследовано 3 вида секции *Ternatae* и 34 вида из секции *Pinus*. В подрode *Strobus* исследовали 14 видов секции *Strobus* и 3 вида секции *Parva*. На электрофоретические свойства глобулинов семян исследовали 28 видов подрода *Pinus* и 18 видов подрода *Strobus*. Основная часть компонентов электрофоретического спектра глобулинов видов рода *Pinus* располагается в диапазоне молекулярных масс от 15 до 150 кДа. Характер спектра многокомпонентный, количество компонентов более 20. Для всех исследованных видов рода характерно наличие основного мощного компонента в области 19 кДа. В большинстве случаев, за исключением *P. halepensis*, *P. pinaster* (подрод *Pinus*, секц. *Pinaster*) и *P. gerardiana* (подрод *Strobus*, секц. *Gerardianae*) характерно также присутствие компонента 44 кДа. Разнообразие видов рода по электрофоретическому спектру глобулинов проявляется в основном за счет различий в группе компонентов 28–32 кДа и за счет присутствия или отсутствия минорных компонентов в различных частях спектра. На основании электрофоретических данных с помощью программы PAST ver.1.67 (Hammer et al., 2001) была построена дендрограмма методом ближайшего связывания NJ, дающая возможность комплексно оценить степень сходства между исследованными видами рода *Pinus*. Для анализа бинарных данных присутствия/отсутствия компонентов одинакового веса использовалась мера сходства Кульчинского (Hammer et al., 2001). За исключением *P. halepensis*, *P. pinaster*, *P. massoniana* большинство видов подрода *Pinus* располагаются в одном большом кластере. Второй большой кластер имеет более сложный состав. Здесь присутствуют представители подрода *Strobus*. Компактно расположены в этом кластере и очень близки *P. taeda*, *P. sabiniana*, *P. patula* (подрод *Pinus*). Еще один более отдаленный от двух больших кластеров, меньший по числу видов кластер, объединяет виды подрода *Strobus*: *P. strobus*, *P. ayacahuite*, *P. strobiformis* и *P. parviflora* (секция *Strobus*) и *P.*

bungeana (секция Parrya). По электрофоретическим данным самым удаленным в подроде Pinus являются P. massoniana, P. pinaster, P. halepensis. Самый обособленный вид в подроде Strobilus – P. sibirica.

Для оценки филогенетических отношений в роде Pinus использован метод двойной иммунодиффузии в геле агарозы в 2-х вариантах: на пластинках и крестом (модифицированный вариант, Арефьева и др., 2000). Для этой цели использовали две антисыворотки, полученные к альбумино-глобулиновой фракции белков семян P. sylvestris (подрод Pinus) и P. sibirica (подрод Strobilus). Исследованы 43 вида рода из подродев Pinus и Strobilus. Установлено, что виды подрода Pinus на антисыворотку к белкам P. sylvestris дают в основном гомологичную реакцию. Представители подрода Strobilus на антисыворотку к P. sylvestris дают реакцию только частичной идентичности. Качество этих реакций резко отличается в худшую сторону от тех реакций частичной идентичности, которые дают некоторые представители подрода Pinus (P. massoniana, P. contorta, P. canariensis, P. ponderosa). Виды подрода Strobilus на антисыворотку к белкам P. sibirica на пластинках дают мощную однокомпонентную реакцию, близкую к гомологичной. В реакциях модифицированным «крестом» обнаруживаются четкие различия между P. sibirica и остальными исследованными видами подрода Strobilus, что проявляется в хорошо выраженной реакции частичной идентичности. Виды подрода Pinus в реакциях на пластинках и модифицированным «крестом» с антисывороткой P. sibirica (подрод Strobilus), хотя и дают четко выраженные реакции частичной идентичности, но качественно отличаются от реакций видов, относящихся к подроду Strobilus. Иммунохимические исследования, однозначно свидетельствуют о существенных различиях между подродами Pinus и Strobilus. Следует также отметить, что P. sibirica иммунохимически не только резко отличается от исследованных видов подрода Pinus, но существенно отличается и от других видов подрода Strobilus, за исключением вида P. parviflora.

Исследовали аминокислотный состав 30 видов из всех 3-х подродев Pinus (один вид из Ducamporpinus, 15 – из подрода Pinus и 14 – из подрода Strobilus). Из данных следует, что аминокислотный состав семян видов стабилен внутри секции и подродев, о чем свидетельствуют низкие значения коэффициента вариации (V%), но четко различают подроды по этой характеристике по содержанию отдельных аминокислот. Так, содержание аргинина в подроде Strobilus составляет 18,6%, Ducamporpinus – 20,5%, в подроде Pinus – 21,8%, а содержание глутаминовой кислоты – 19,4%, 17,4% и 15,8% соответственно, что существенно превышает вариабельность по содержанию этих аминокислот внутри подродев. Таким образом, полученные данные поддерживают представление ряда авторов (Бобров, 1983; Орлова, Аверьянов, 2004 и др.) о целесообразности разделения рода Pinus s.l. на три сепаратных рода: Ducamporpinus, Pinus и Strobilus, поскольку аминокислотный состав семян в первую очередь характеризует родовой статус таксонов (Семихов, Новожилова, 1982; Семихов и др., 2007). Расчет обобщенного статистического расстояния показывает хорошо выраженную гетерогенность в роде Pinus. И хотя все подроды Pinus s.l. четко отличаются и от других исследованных родов семейства (самый близкий к подроду Pinus – род Tsuga имеет обобщенное статистическое расстояние – 3,30, к подроду Strobilus – род Cedrus – 2,40), степень различия между подродами Pinus и Strobilus имеют степень различия – 4,10. Т.е., подроды Pinus и Strobilus различаются больше между собой, чем с общепризнанными родами (Cedrus, Tsuga и др.). Дендрограмма иерархической кластеризации подтверждает существенные различия между обсуждаемыми подродами (Семихов и др., 2007), что в принципе, согласуется и с иммунохимическими и с электрофоретическими данными, обсужденными выше.

Работ выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48591.

Литература

- Арефьева Л.П., Семихов В.Ф., Гринаш М.Н., Новожилова О.А., Махин П.В. Иммунохимическое исследование рода Pinus и его взаимоотношений с другими родами семейства Pinaceae Lindl. // Бюл. Гл. ботан. сада РАН. 2000. Вып. 179. С. 126–132.
- Бобров Е.Г. О межродовой гибридизации в сем. Pinaceae // Ботан. журн. 1983. Т. 68. №7–8. С. 857–865.
- Козубов Г.М., Муратова Е.Н. Современные голосеменные. Л., Наука. 1986. 192 с.
- Орлова Л.В. Сосны России (систематика и география): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. С – Петербург, 2000. 20с.
- Орлова Л.В., Аверьянов Л.В. О систематическом положении Ducamporpinus krempffii (Pinaceae) // Turczaninowia. 2004. N.7. №2. С. 30–44
- Семихов В.Ф., Гвоздева Е.В., Бессчетнов В.П., Арефьева Л.П., Новожилова О.А., Гринаш М.Н. Систематика семейства Pinaceae Adans. с позиции аминокислотного состава семян // Ботан. журн. 2007. Т. 92. № 12. С. 1910–1924.
- Семихов В.Ф., Новожилова О.А. Таксономическая ценность аминокислотного состава семян // Ботан. журн. 1982. Т. 67. № 9. С. 1207–1215.
- Тахтаджян А.Л. Высшие растения. 1. От псилофитовых до хвойных. Л., 1956. 488с.
- Critchfield W.B., Little E.L. Geographic distribution of the pines of the world. Wash. (D.C.): US Dep. of Agr., 1971. 97 p.
- Frankis M.P. Generic inter-relationships in Pinaceae // Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh. 1989. Vol. 46. P. 527–548.
- Hammer O., Harper D. A. T. & Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol.4. № 1. 4 -9 pp.
- Zhang Z.Y., Li D.Z. Molecular phylogeny of section Parrya of Pinus (Pinaceae) based on chloroplast matK gene sequence data // Acta Botanica Sinica. 2004. Vol.46. № 2. P. 171–179.

ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ СЕКЦИИ RHIZIRIDEUM G. DON FIL. EX W.D.J. KOCH РОДА ALLIUM L.

Синицына Т.А.¹, Фризен Н.В.²¹Санкт-Петербург, Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова²Германия, Оснабрюк, Ботанический сад Оснабрюкского университета

Род *Allium* является одним из крупнейших и экономически важных родов однодольных растений. Он включает более чем 800 видов, распространенных, в основном, в северном полушарии (World checklist of Alliaceae, 2006).

Согласно современной классификации (Friesen et al., 2006), род состоит из 15 монофилетических подродов и 67 секций. Подрод *Rhizirideum* (G. Don ex W.D.J. Koch) Wendelbo включает в себя 5 секций: sect. *Rhizirideum* s. str., sect. *Caespitosoprason* N. Friesen, sect. *Rhizomatosa* Egor., sect. *Tenuissima* (Tzagolova) Hanelt и sect. *Eduardia* N. Friesen.

Секция *Rhizirideum* включает 20 видов (*Allium denudatum* F. Delarochae (syn. *A. albidum* Fisch. ex M.Bieb.), *A. angulosum* L., *A. austrosibiricum* N. Friesen, *A. azutavicum* Kotuch., *A. burjaticum* N. Friesen, *A. czelghauricum* Bordz., *A. flavescens* Bess., *A. incensiodorum* Radic., *A. lusitanicum* Lam., *A. nutans* L., *A. prostratum* Trevir., *A. pseudoalbidum* N. Friesen et Ozhatay, *A. rubens* Schrad. ex Willd., *A. senescens* L. s.str., *A. senescens* ssp. *glaucum* (Regel) Dostal, *A. senescens* var. *minor* S.O.Yu, S.Lee et W.T.Lee, *A. spirale* Willd., *A. spurium* Don (*A. dauricum* N.Friesen), *A. stellerianum* Willd., *A. togashii* Hara, *A. tuvinicum* (N. Friesen) N. Friesen, *A. tythocephalum* Roem. et Schult.), которые характеризуются наличием горизонтального корневища и луковиц, одетых в бумагообразные пленчатые оболочки. Виды секции распространены от Европы до Дальнего Востока, некоторые виды широко распространены, например, *A. angulosum*, *A. nutans*, другие же являются эндемиками, например, *A. azutavicum*, *A. incensiodorum*, *A. tythocephalum*. Центр видовой разнообразия секции лежит в горных степях Сибири и Монголии.

Секция *Rhizirideum* является монофилетичной группой (Friesen et al., 2006). Филогения секции очень запутанна из-за полиморфизма и гибридизационных процессов, происходящих между видами. Внутри секции существует полиплоидный комплекс видов – *A. senescens* s.l., включающий 7 видов с разным уровнем пloidности – от диплоида (*A. austrosibiricum*) до гексаплоида (*A. senescens* s.str.).

Целью работы было изучение филогенетических отношений между видами секции с помощью молекулярных методов систематики растений.

Материалы и методы

В работе были использованы гербарный материал и живые растения из гербария и Ботанического сада Оснабрюкского Университета (OSBU), Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (WIR), Ботанического института им. В.Л. Комарова (LE) (Санкт-Петербург), Южно-Сибирского ботанического сада Алтайского государственного университета (ALTBE) (Барнаул), Московского государственного университета (MW).

70 образцов 23х представителей секции были проанализированы с применением методов секвенирования trnT-trnL, trnL-intron and trnL-trnF спейсерных фрагментов хлоропластной ДНК и ITS фрагментов ядерной рДНК.

29 образцов 17 видов секции были изучены с помощью RAPD (Random amplified polymorphic DNA), с использованием 7 праймеров, которые дали 108 признаков для анализа.

Для анализа данных, полученных в результате секвенирования, были использованы программы PAUP 4.0, Mbayes v.3. Матрица данных, полученных в результате RAPD, была проанализирована с помощью программы NTSYS: был посчитан коэффициент сходства UN4, на основе которого данные были обработаны UPGMA статистическим методом.

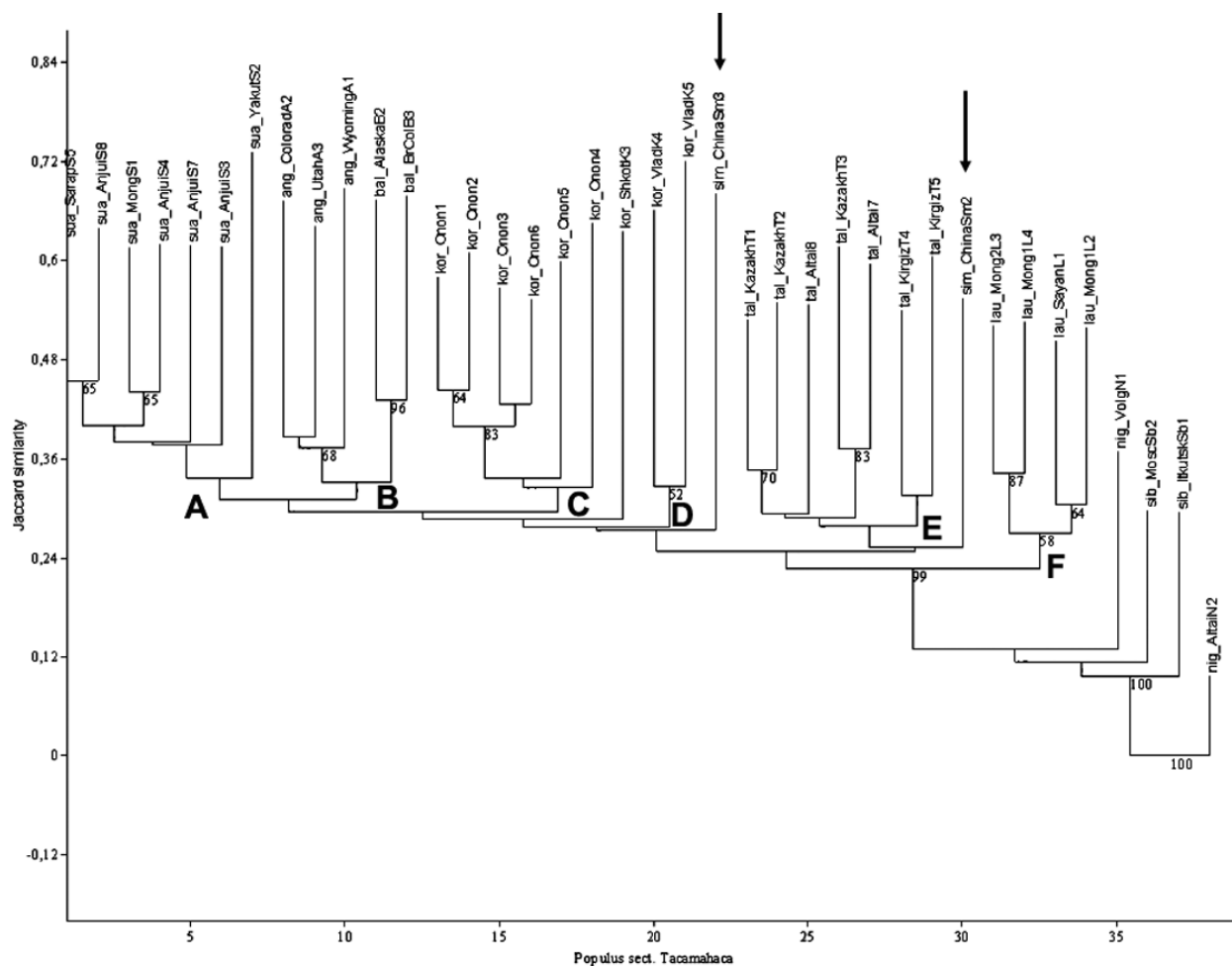
Результаты

Сравнение фрагментов хлоропластной ДНК показало минимальные различия между видами секции. Самым варибельным участком оказался trnL-trnF фрагмент хлДНК. Но и при сравнении этих нуклеотидных последовательностей виды различаются лишь по 1–2 паре нуклеотидов.

Использование ITS фрагментов ядерной ДНК позволило увидеть 2 хорошо различимые группы внутри секции *Rhizirideum* (Рис.): европейскую, объединяющую виды, ареал которых целиком расположен или частью заходит в Европу; и азиатскую группу, виды которой произрастают только на территории Азии.

Азиатская группа видов генетически более дифференцирована, чем европейская группа. Четко выделяются виды *A. rubens*, *A. tuvinicum*, *A. spirale*. Виды европейской группы практически не различаются, что может говорить о том, что европейская группа моложе, чем азиатская.

Несколько представителей секции, произрастающие в Сибири (*A. tythocephalum*, *A. azutavicum*) и Корее (*A. senescens* var. *minor*) попали в европейскую группу видов. Так как в работе использовался достаточно старый гербарный материал этих образцов, то полученные результаты следует тщательно проверить.



В результате RAPD в секции *Rhizirideum* выделились 2 группы – «белоцветковые» и «красноцветковые» виды. Группа «белоцветковых» видов объединяет представителей с бело-желтой окраской околоцветника, а группа «красноцветковых» видов включает представителей с окраской околоцветника от розоватой до пурпурной. Затем каждая из этих 2х групп делится на европейскую и азиатскую.

Таким образом, проведенные исследования позволяют нам сказать, что хлоропластная ДНК показывает минимальные различия между видами внутри секции *Rhizirideum*. Сравнение ITS фрагментов ядерной рДНК и RAPD показывают лишь группы видов (европейскую, азиатскую, «белоцветковых», «красноцветковых») внутри исследуемой секции. Четкие генетические отличия имеют лишь некоторые виды (*A. rubens*, *A. tuvinicum*, *A. spirale*). Тот факт, что азиатская группа видов секции генетически более дифференцирована, чем европейская группа, позволяет также сказать, что, вероятно, центр происхождения секции *Rhizirideum* совпадает с ее центром видового разнообразия. В целом, молекулярные различия между видами секции минимальны, что позволяет говорить о малом возрасте секции, вероятно, около 1 миллиона лет.

Luzernatupa

Friesen N., Fritsch R.M., Blatther F.R. Phylogeny and intrageneric classification of *Allium* L. (*Alliaceae*) based on nuclear ribosomal DNA ITS // Aliso. 2006. Vol.22. N 1. P. 372 – 395.

Govaerts, R., Snijman, D.A., Marcucci, R., Silverstone-Sopkin, P.A., Brullo, S., Friesen, N. (2006). World Checklist of Alliaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.kew.org/wcsp/> accessed 15 January 2007; 10:30 GMT.

ПОЛИМОРФИЗМ БАЛЬЗАМИЧЕСКИХ ТОПОЛЕЙ (*POPULUS* L. СЕКЦИЯ ТАСАМАНАСА) ПО ДАННЫМ ISSR МАРКИРОВАНИЯСкворцов А.К.¹, Бээр С.С.², Шанцер И.А.¹¹Москва, Главный ботанический сад РАН²Москва, Биологический ф-т МГУ

В настоящем исследовании мы попытались оценить пригодность молекулярно-генетических методов ISSR маркирования для исследования полиморфизма и родства таксонов рода *Populus* L. в пределах секции Тасаманаса. Для исследования были отобраны образцы тополей из гербарной коллекции А.К. Скворцова: *P. balsamifera* (С. Америка) – 2; *P. angustifolia* (С. Америка) – 3; *P. laurifolia* (Монголия, Саян) – 4; *P. macrocarpa* (Киргизия, Алтай, Казахстан) – 7; *P. simonii* (Китай, Москва) – 3; *P. suaveolens* (Монголия, Якутия, Хабаровский край) – 8; *P. koreana* (Читинская обл., Приморский край) – 10. Два образца *P. nigra* (секция Aigeiros) из Волгоградской области и Иркутска были взяты в качестве внешней группы. В исследование были также включены два образца *P. x sibirica*, предположительно считавшегося межсекционным гибридом *P. nigra* x *P. balsamifera* и очень широко распространенного в культуре.

ДНК выделяли из сухих листьев (20 мг каждого образца) с использованием набора NucleoSpin Plant (Macherey-Nagel, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. ПЦР реакцию с предварительной денатурацией (95°C – 3 мин) проводили в амплификаторе MJ Research PTC-220 DNA Engine Dyad (Bio-Rad Ltd., США) в течение 35 циклов в режиме: денатурация при 94°C — 30 с, отжиг при соответствующей температуре — 30 с, элонгация при 72°C — 40 с + прибавление 2 с на каждый цикл. Реакционная смесь (20 мкл) содержала 10–20 нг ДНК, 20 пмоль праймера и готовый реакционный микс МаGMix (200 мкМ каждого dNTP, 1,5 мМ MgCl₂, 1,5 ед. Taq-полимеразы и буфер, Диалат ЛТД, Россия). Продукты реакции разделяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1x трис-боратном буфере с бромистым этидием (0,5 мкг/мл) при 90 В и фотографировали. Фотографии агарозных гелей были проанализированы в программе Cross Checker 2.91 (Buntjer, 2000) с составлением бинарных матриц присутствия/отсутствия фрагментов одинаковой длины.

Для реакции были использованы ISSR праймеры M7, M8, UBC840, UBC855, UBC868, UBC881 и сочетание праймеров UBC840 и UBC855. С ДНК из трех образцов (*P. suaveolens* S6 из Хабаровского края, *P. koreana* K2 из Приморского края и *P. simonii* Sm1 из Москвы) реакция с большинством праймеров прошла очень плохо. Эти три образца были исключены из дальнейшего анализа. Всего удалось получить 145 ампликонов, большинство из которых оказались полиморфными в пределах видовых и популяционных (для *P. suaveolens* и *P. koreana*) выборок.

Анализ полученных молекулярных данных мы проводили в программе PAST ver. 1.67 (Hammer et al., 2001) методами Neighbor Joining и Principal Coordinate Analysis с использованием меры сходства Жаккара. Устойчивость структуры дерева в NJ анализе оценивалась методом бутстрепа (1000 бутстреп реплик).

В результате проведенного анализа были получены следующие результаты:

1) Секция Тасаманаса в NJ анализе образовала единую по отношению к внешней группе с высокой бутстреп поддержкой (99%), что говорит о ее полной естественности. В ее пределах отдельные группы образцов, в частности, образцы *P. koreana* из популяции в Читинской области, североамериканские *P. angustifolia* и *P. balsamifera*, а также центральноазиатский *P. laurifolia*, также образовали кластеры с бутстреп поддержкой выше 50% (96% для *P. balsamifera*). Однако отношения между отдельными видами и популяциями в нашем исследовании остались неразрешенными. Для их уточнения, вероятно, потребуется привлечение большего материала, большего числа ISSR маркеров, а также использование специфических маркеров, таких как последовательности ядерного и хлоропластного геномов.

2) Образцы *P. x sibirica* попали во внешнюю группу и во всех случаях отчетливо группировались с *P. nigra*, а не с *P. balsamifera*. Это заставляет поставить под сомнение выдвинутую ранее (Скворцов, 2007) гипотезу о происхождении *P. x sibirica* в результате гибридизации *P. nigra* x *P. balsamifera*. Приходится констатировать, что вопрос о происхождении этого широко распространенного культивара остается открытым и нуждается в дальнейшем изучении, хотя участие *P. nigra* в его образовании теперь и не вызывает сомнений.

3) Центральноазиатские *P. laurifolia* и *P. macrocarpa* (= *P. talassica*) оказались, как и предполагалось по данным морфологии, наиболее близкими друг к другу и (в NJ анализе – кластеры E и F) базальными по отношению к дальневосточным и североамериканским представителям секции Тасаманаса.

4) Дальневосточно-сибирские *P. suaveolens* и *P. koreana* образовали довольно рыхлую группу из трех кластеров (A, C, D). Это не противоречит предлагаемой А.К. Скворцовым (Скворцов, Белянина, 2006) широкой трактовке их, как одного полиморфного вида *P. suaveolens*. Однако тот факт, что выборки из популяций *P. suaveolens* из долины Амура в Хабаровском крае и *P. koreana* из Читинской области образовали отдельные хорошо очерченные кластеры, говорит о существующей значительной географической дифференциации в

пределах этого широко распространенного вида, который заслуживает дальнейшего изучения. Видимо, необходимо также привлечение материалов с территории Китая.

5) Североамериканские *P. balsamifera* и *P. angustifolia* оказались весьма близкими друг другу и образовали одну группу в анализе методом главных координат и два соседних кластера в NJ анализе (B). Однако в последнем случае они оказались включены внутрь группы кластеров *P. suaveolens* в широком смысле (A, B, C, D). Так же как и последний вид, североамериканские представители секции Тасамачаса заслуживают дальнейшего изучения с привлечением большего материала.

6) Включенные в исследование два образца *P. simonii* (оба собраны в провинции Шэньси Китая) не образовали одного кластера в NJ анализе. Один из них оказался базальным по отношению к кластеру *P. macrocarpa*, другой – к группе кластеров, объединяющих *P. suaveolens* в широком смысле и североамериканских представителей секции. Вполне вероятно гибридная природа этих образцов. Этот вид, считающийся хорошо очерченным, заслуживает дальнейшего исследования, с привлечением как значительно большего материала из Китая, так и культивируемых образцов с территории России.

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-48569.

Литература

- Buntjer J.B. Cross Checker: computer assisted scoring of genetic AFLP data // Plant & Animal Genome VIII Conference. San Diego, CA, January 9–12, 2000. (<http://wheat.pw.usda.gov/jag/papers99/paper599/indexp599.html>).
- Hammer O., Harper D. A. T. & Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. V. 4 N 1, 4. 9 pp. (http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm).
- Сворцов А.К., Белянина Н.Б. О бальзамических тополях (*Populus* sect. Тасамачаса, Salicaceae) на востоке азиатской России // Ботан. Журн. 2006. Т. 91, № 8. С. 1244–1252.
- Сворцов А.К. О сибирском «бальзамическом» тополе // Бюл. Главного ботанического сада. 2007. Вып. 193. С.

ЭВОЛЮЦИОННО-КОНСЕРВАТИВНЫЙ ГЕН 5.8S рРНК В ГЕНОМЕ *AVENA* И ДРУГИХ ЗЛАКОВ

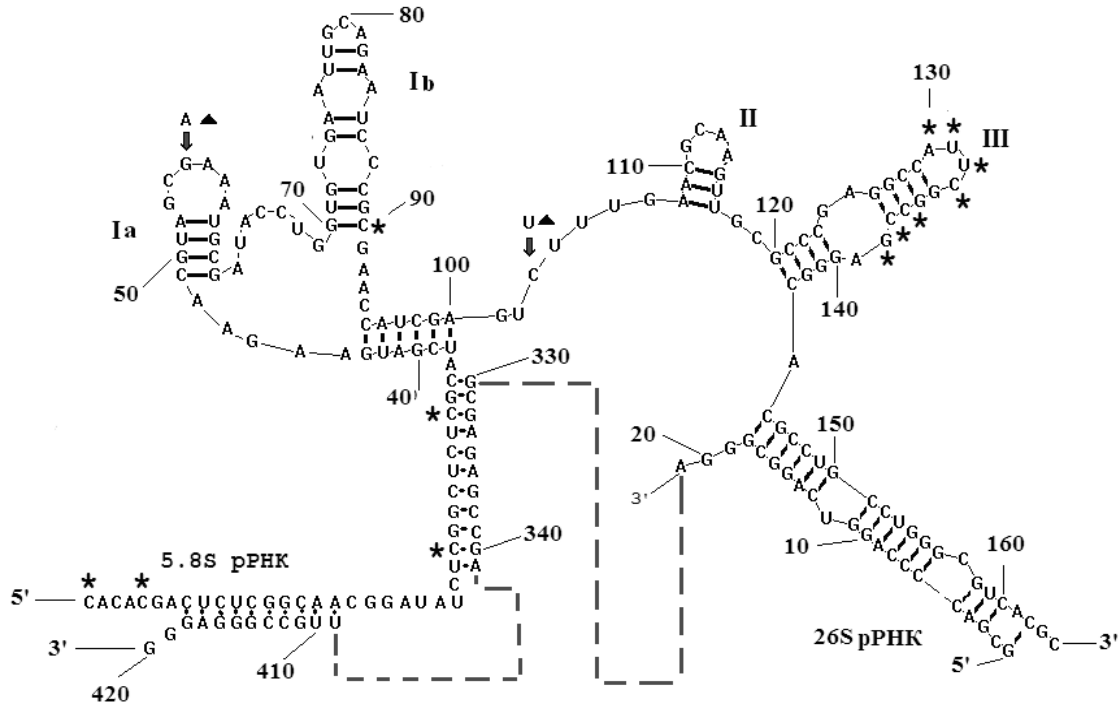
Тюпа Н.Б., Родионов А.В.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

Исследованы изменения первичной и вторичной структуры 5.8S рРНК в ходе дивергенции таксонов в сем. Poaceae. В пределах рода, например, у всех 25 исследованных видов рода *Avena*, 5.8S рРНК, как правило, идентичны. Длина этой последовательности составляет 164 нуклеотида, 58,9% dG+dC. С помощью так называемого, «генетического» алгоритма, лежащего в основе программы GArna (Titov et al., 2002) и с помощью алгоритма Цукера (Zuker, 1989) с использованием программы RNAstructure 3.71 были построены вероятные вторичные структуры 5.8S рРНК (рис.). На рис. видно, что вторичная структура 5.8S рРНК у злаков имеет типичные шпильки и однонитевые петли, обнаруженные и у других видов высших растений, грибов, динофлагеллят, амфибий (см.: Hershkovitz, Lewis, 1996; Peculis, Greer, 1998; Gottschling, Plotner, 2004). То, что последовательность 5.8S рРНК относительно консервативна в течение длительного (в эволюционном смысле) времени свидетельствует, что мутации фиксируются в такой последовательности редко, причем образовавшийся вариант последовательности, вероятно, также стабильно поддерживался в течение длительного времени (Алешин, 2005). Отсюда следует, что 5.8S рРНК может содержать «хорошие» признаки, монофилетического типа, характерные для отдельных таксонов. Для того, чтобы найти такие признаки, мы сопоставили наши данные по последовательностям 5.8S рРНК у *Aveneae* и *Poeae* с результатами секвенирования генов 5.8S рРНК у других представителей *Poaceae* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

В качестве внешней группы для *Poaceae* мы взяли представителя сем. *Joinvilleaceae* – *Joinvillea plicata* – единственного представителя порядка Poales, не относящегося к семейству *Poaceae*, для которого известна последовательность нуклеотидов 5.8S рРНК (Hsiao et al., 1998). Анализ последовательностей 5.8S рРНК позволил нам обнаружить характерные синапоморфии, подтверждающие предполагаемое раннее разделение *Poaceae* на две филогенетических ветви – на группу арундиноидных триб, называемую, обычно, кладой PACCAD (то есть, *Panicoideae-Aristidoideae-Centothecoideae-Chloridoideae-Arundinoideae* (включая *Molinia*)-*Danthonioideae*) и кладу ВЕР (*Bambusoideae-Ehrhartoideae-Pooideae*), что согласуется с представлениями, основанными на основании анализа хлоропластных генов (Soreng, Davis, 1998; Barker et al., 1999; Grass Phylogeny Working Group, 2001). Последовательности 5.8S рРНК растений клады ВЕР, также как *Joinvillea plicata* и примитивные, занимающие базальное положение на древе *Poaceae* злаки *Streptochoeta sodiroana* и *Pharus latifolius*, несут G в положении 55 и C в положении 103. У всех паникоидных злаков клады PACCAD в положении 55

стоит А, а в положении 103 – U. Первая из этих замен (G→A) произошла в петле первой шпильки Ia в результате чего у злаков кланды РАССАD образуется поли А-трек (рАААА), вторичная структура молекулы не изменилась (рис.1). Вторая транзиция (С→U) также затронула неспаренный район; эта мутация также не изменяет вторичную структуру 5.8S рРНК (рис.).



Вторичная структура молекулы 5.8S рРНК, характерная для видов рода *Avena*, и ее взаимодействие с 26S рРНК. Римскими цифрами Ia, Ib, II и III обозначены шпильки. Звездочками отмечены позиции, мутации по которым возникают неоднократно в разных трибах *Poaceae*; Треугольниками – синаноморфные замены, характерные для всех злаков кланды РАССАD.

В пределах подтрибы *Aveninae* (Овсовые), кроме исследованных нами 25 видов *Avena*, известны последовательности 5.8S рРНК *Helictotrichon asiaticum*, 3 видов *Dichelachne* и *Arrhenatherum elatius* (см.: www.ncbi.nlm.nih.gov). Все они, кроме *Arrhenatherum*, имеют одинаковые последовательности 5.8S рРНК. У райграса же (*Arrhenatherum elatius*), в III-шпильке 5.8S рРНК, в положении 127 и 136 были обнаружены две замены. Анализ вторичной структуры РНК показал, что, несмотря на две мутации, у этого вида полностью сохраняется вторичная структура рРНК, так как обе замены произошли в комплементарной позиции в третьей шпильке, то есть, в этом случае мы наблюдаем яркий пример компенсаторной мутации. Обнаружение сразу двух нуклеотидных замен в высоко консервативной спирали у *Arrhenatherum* показывает, что сначала произошла замена С→U или G→А, дестабилизировавшая спираль, приведшая ее в нестабильное «возбужденное» состояние (см. Алешин, 2005) и, затем, возникла и была поддержана отбором компенсаторная мутация, вернувшая спираль стабильность.

Такая же последовательность 5.8S рРНК как у *Avena* обнаружена также у *Calamagrostis epigejos*, представителя подтрибы *Agrostidinae* (Полевицевые). Однако последовательность 5.8S рРНК у трех других исследованных видов этой подтрибы иная: у нами секвенированного *Agrostis capillaris* (Kim et al., 2004) и 6 других видов *Agrostis*, секвенированных другими авторами (Gardner et al., 2004), имеется замена С→U в положении 137, при этом вторичная структура рРНК сохранена, а у *Zingieria biebersteiniana* и *Z. trichopoda* обнаружены сразу три нуклеотидных замены в трех рядом лежащих позициях – UUC заменилось на CCU. Точно такие же замены найдены еще у трех видов злаков (*Arctophila fulva*, *Dupontia fisheri* и *Colpodium versicolor*), все они относятся к подтрибе *Poinae* (Мятликовые). Вторичная структура 5.8S рРНК при этом не меняется, так как все три нуклеотида лежат в неспаренном участке. Это один из аргументов в пользу того, что род *Zingieria* ближе к Мятликовым, чем к Овсовым.

Первичная последовательность нуклеотидов в шпильке III – самый вариabельный район 5.8S рРНК, но при этом все обнаруженные у *Poaceae* изменения ее не нарушают вторичной структуры, что, вероятно, говорит о роли вторичной структуры этой части молекулы в упаковке или работе рибосомы.

Работа финансировалась из средств РФФИ (грант 06-04-48399) и программой «динамика генофондов».

Литература

- Алешин В.В. Синапоморфные признаки в РНК малой субъединицы рибосом беспозвоночных. Автореф. дисс... док. биол. наук. М., 2005. 48 с.
- Barker N.P., Linder H.E., Harley E.H. Sequences of the grass-specific insert in the chloroplast rpoC2 gene elucidate genetic relationships of the *Arundinoideae* (*Poaceae*) // *Sys. Bot.* Vol. 23. P. 327–350.
- Gardner R.C., Keeling J., de Lange P.J., Wright S.D., Cameron E.K. A New Zealand biodiversity database // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. 2004. Locuses AY705885, AY705884, AY705883, AY705882, AY705881, AY705880.
- Gottschling M., Plötner J. Secondary structure models of the nuclear internal transcribed spacer regions and 5.8S rRNA in *Calciodinelloideae* (*Peridiniaceae*) and other dinoflagellates // *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. P. 307–315.
- Grass Phylogeny Working Group / Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (*Poaceae*) // *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 2001. Vol. 88. P. 373–430.
- Hershkovitz M.A., Lewis L.A. Deep level diagnostic value of the rDNA ITS region // *Mol. Biol. Evol.* 1996. Vol. 13. P. 1276–1295.
- Hsiao C., Jacobs S.W.L., Chatterton N.J., Asay K.H. A molecular phylogeny of the grass family (*Poaceae*) based on the sequences of nuclear ribosomal DNA (ITS) // *Australian Systematic Botany.* 1998. Vol. 11. P. 667–688.
- Kim E.S., Тура Н.В., Мачс Е.М., Пунина Е.О., Родионов А.В. Nucleotide sequence of the internal transcribed spacer regions ITS1 and ITS2 and 5.8S rRNA gene in *Agrostis capillaris* L. (*Agrostis tenuis* Sibth.) // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 2004. Locus AY520820.
- Peculis B.A., Greer C.L. The structure of the ITS2-proximal stem is required for pre-rRNA processing in yeast // *RNA.* 1998. Vol. 4. P. 1610–1622.
- Soreng R.J., Davis J.I. Phylogenetics and character evolution in the grass family (*Poaceae*): simultaneous analysis of morphological and chloroplast DNA restriction site character sets // *The Botanical Review.* 1998. Vol. 64. P. 1–89.
- Titov I.I., Vorobiev D.G., Kolchanov N.A. Mass analysis of RNA secondary structures using a genetic algorithm // *Proc. 2nd Int. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure.* Novosibirsk. Russia. 2002. Vol. 2. P. 138–141.
- Zuker M. On finding all suboptimal folding of an RNA molecule // *Science.* 1989. Vol. 244. P. 48–52.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ СЕМЕЙСТВА СЛЕОМАСЕАЕ В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ
МОРФОЛОГИИ, СИСТЕМАТИКИ И ЭВОЛЮЦИИ С₄ ФОТОСИНТЕЗА

Федорова Т.А.¹, Вознесенская Е.В.², Ролсон Э.Х.³, Эдвардс Д.Э.³

¹Москва, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия

²Санкт Петербург, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия

³Пулман, Вашингтонский Государственный университет, США

Семейство *Cleomaceae* было выделено как самостоятельное в результате филогенетического анализа морфологических (Judd et al., 1994) и молекулярных (хлоропластная ДНК – *ndhF* и *trnL-trnF*) (Hall et al., 2002) данных, полученных при изучении *Sapparaceae* и *Brassicaceae*. В обоих исследованиях оно локализовалось на филогенетических деревьях как сестринская к семейству *Brassicaceae* группа, однако существенным недостатком являлось ограниченное число видов обоих семейств, взятых для анализа. Целью настоящего исследования являлось более глубокое изучение филогении представителей семейства *Cleomaceae* на основании анализа хлоропластных и ядерных последовательностей для реконструкции эволюции и распространения С₄ фотосинтеза, важнейших морфологических признаков, биогеографии и, как следствие, таксономической ревизии семейства. Для определения частоты встречаемости и распределения типов фотосинтеза, типов организации цветка, структуры соцветий, биогеографии *Cleomaceae* в мировом объеме мы использовали филогению, полученную на основании сравнения последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) ядерной рибосомальной ДНК и спейсеров *psbA-trnH* хлоропластной ДНК.

На филогенетическом дереве, построенном на основании анализа участка *ITS* рибосомальной ядерной ДНК, с высокой степенью поддержки обособляются ветви, содержащие клады, которые мы условно называем *Polanisia*, *Peritoma* с родами *Wislizenia* и *Oxystylis*, *Thyllacophora* и *Buhsea*, а также большая ветвь *Cleome* s.str. Таким образом, род *Cleome* в современном его понимании может оказаться полифилетичным. Клады *Polanisia*, *Peritoma* с родами *Wislizenia* и *Oxystylis*, *Thyllacophora* и *Buhsea* занимают базальное положение по отношению к *Cleome* s.str. В кладе *Cleome* s.str. можно выделить следующие подклады: *Raumanissa*, *Gymnogonia*, *Siliquaria*, и американскую группу клеом с подкладами, которые мы условно назвали *Physostemon*, *Podandrogynae*, *Gynandropsis*, *Ebracteata*, *Tarenaya*. Деревья, полученные на основании филогенетического анализа участка хлоропластной ДНК (*psbA-trnH*) в целом соответствуют вышеописанному, но хорошо поддерживаемыми являются только базальные клады, а взаимосвязь и поддержки подклад клады *Cleome* s.str. не являются определенными и достоверными.

Сопоставление филогенетических данных с данными биогеографии четко показывает наличие американской базальной группы *Peritoma* с родами *Wislizenia* и *Oxystylis*, базальное положение также занимает и

единственный проанализированный нами американский вид *Polanisia dodecandra*. Афроазиатские виды секций *Thyllacophora* и *Buhsea* также хорошо отграничены от афроазиатских видов *Cleome*, базальных по положению по отношению к американским видам *Cleome*. В кладе *Cleome* s.str. в группе афроазиатских видов обособляется клада австралийских видов, которые образуют сестринскую группу по отношению к *C. viscosa*. В целом, данные анализа изученных последовательностей хорошо совпадают с биогеографическими данными. На основании данных филогеографического анализа высказаны гипотезы о происхождении родов семейства и реконструировано распространение представителей семейства Cleomaceae.

В рамках морфологического анализа были выявлены типы структуры цветков, встречающиеся у представителей семейства Cleomaceae. С использованием филогении семейства мы изучили частоту встречаемости и распределение разных флоральных типов. Наиболее изменчивыми признаками строения цветка являются число тычинок, наличие андрофора, гинофора и тип нектарников. По-видимому, анцестральным состоянием следует считать шеститычиночный андроцей. Также было обнаружено всего несколько видов, относящихся к разным кладам, которые имеют цветки с четырьмя и двумя тычинками, из чего можно сделать вывод, что такое состояние андроцея возникает независимо. Дальнейших реверсий к цветкам с большим числом тычинок в этих кладах не происходило. Сразу в нескольких кладах возникает переход к многотычиночному состоянию андроцея. Увеличение числа тычинок может быть связано с возрастанием пролиферативной активности зоны флоральной меристемы с базипетальной разметкой (возможно, это реверсии к цветкам Саррагасеае-типа). Иногда пролиферативная активность меристемы возрастает и приводит к образованию андрофора, тогда число тычинок при этом не возрастает. Выявлены корреляции между степенью развития нектарников и числом тычинок: с уменьшением размеров нектарника число тычинок возрастает. На основании сопоставления филогенетических и данных морфологии цветка обсуждаются вопросы флоральной эволюции в этом семействе.

Выявленные типы организации и структуры генеративных побегов в Cleomaceae довольно жестко коррелируют со следующими кладами: *Peritoma* клада представлена однолетними и многолетними травами с псевдотерминальными, нерегулярными, разреженными, четковидными, брактеозными и абрактеозными кистями 3-листочковыми сложными листьями в вегетативной зоне; *Polanisia* клада представлена однолетними травами с пролиферирующей флоральной зоной или псевдотерминальными, нерегулярными, разреженными, четковидными, брактеозными кистями и 3-листочковыми брактелями, сходными с обычными вегетативными листьями; *Thyllacophora* и *Buhsea* клады представлены многолетними полукустарниками с пролиферирующими флоральными зонами и простыми брактелями и листьями; почти все клады, выделившиеся в роде *Cleome* представлены однолетними травами с иррегулярными, разреженными или компактными кистями и простыми брактелями в области соцветий, тогда как вегетативные листья могут быть сложными. Базальное положение занимают группы видов с пролиферирующими флоральными зонами, представленными отдельными цветками, чередующимися с побегами, основания которых становятся многолетними и включаются в многолетний осевой скелет растения (*Thyllacophora*, *Buhsea*, *Polanisia*), терминальными разреженными четковидными кистями с брактелями не отличающимися от вегетативных листьев. По происхождению такие кисти следует считать псевдотерминальными (*Polanisia*, *Peritoma*). Производными являются соцветия представленные компактными четковидными или компактными терминальными брактеозными или абрактеозными кистями (*Peritoma*, *Cleome*).

В вопросе о том, какие листья – сложные 3-листочковые, сложные многолисточковые или простые – являются примитивными для этого семейства, однозначно можно сказать, что базальное положение занимают виды как с простыми, так и с 3-листочковыми сложными листьями, а многолисточковые сложные листья – производный признак. Сделать вывод о том какой признак первичен – простые или сложные 3-листочковые листья, не представляется возможным и на основании филогении.

В настоящее время таксономию Cleomaceae нельзя назвать хорошо разработанной и устоявшейся. Наш филогенетический, морфологический и биогеографический анализ позволяет сформулировать несколько гипотез о взаимосвязи между собой и с базальными представителями семейства Саррагасеае групп *Polanisia*, *Peritoma*, *Buhsea*, *Thyllacophora*, *Cleoma* s.str. Мы не исключаем полифилетического происхождения семейства от базальных представителей семейства Саррагасеае, распространенных на разных континтах. Из рода *Cleome* s.lat., по-видимому, следует исключить секции *Polanisia*, *Peritoma*, *Buhsea*, *Thyllacophora* и рассматривать их в ранге самостоятельных родов или даже семейств. Также обсуждается положение некоторых видов и на основании анализа таксономической значимости предлагается пересмотреть диагнозы родов и внутривидовых таксонов, а также видовой состав этих таксонов.

Предварительный анализ показал, что C_3 тип фотосинтеза является анцестральным типом для этого семейства, а C_3 - C_4 промежуточный и C_4 типы фотосинтеза являются производными. Типы фотосинтеза у представителей семейства Cleomaceae были определены ранее и наряду с хорошо известным C_4 видом, *Cleome gynandra*, было обнаружено наличие еще двух видов с C_4 характеристиками (*C. angustifolia* and *C. oxalidea*) и одного вида с C_3 - C_4 промежуточным типом фотосинтеза (Marshall et al., 2007; Voznesenskaya et al., 2007). C_4 тип фотосинтеза представлен в кладе *Gymnogonia* (*C. angustifolia*, *C. gynandra*) и кладе *Siliquaria* (*C. oxalidea*).

C. paradoxa – вид с C_3 - C_4 промежуточным типом фотосинтеза, также принадлежит к кладе *Gymnogonia*, тогда как *C. allamani*, второй вид, у которого можно предположить наличие C_3 - C_4 фотосинтеза, находится в кладе *Siliquaria*. Таким образом, на основании наших данных можно предположить, что C_4 фотосинтез возникал в данном семействе дважды. Используя данные филогенетического анализа Cleomaceae, детально обсуждаются взаимодействия между типами фотосинтеза и гипотезы возможного происхождения и эволюции C_4 типа фотосинтеза у представителей этого семейства в связи с условиями их произрастания.

Авторы выражают глубокую благодарность фонду CRDF (Civilian Research and Development Foundation), грант RUB1-2829-ST-06, а также членам лабораторий фотосинтеза и молекулярной систематики школы биологических наук и центра интегрированных биотехнологий Вашингтонского государственного университета.

Литература

Hall JC, Sytsma KJ, Iltis HH. Phylogeny of Capparaceae and Brassicaceae based on chloroplast sequence data // American Journal of Botany. 2002. Vol. 89. P. 1826–1842.

Judd WS, Sanders RW, Donoghue MJ. Angiosperm family pairs: Preliminary phylogenetic analyses // Harvard Pap. Bot. 1994. Vol. 5. P. 12–18.

Marshall DM, Muhaidat R, Brown NJ, Liu Z, Stanley S, Griffiths H, Sage RF, Hibberd JM. Cleome, a genus closely related to *Arabidopsis*, contains species spanning a developmental progression from C_3 to C_4 photosynthesis // The Plant Journal. 2007. Vol. 51. P. 886–896.

Voznesenskaya E, Koteyeva NK, Chuong SDX, Ivanova AN, Barroca J, Craven L, Edwards GE. Physiological, anatomical and biochemical characterization of the type of photosynthesis in *Cleome* species (Cleomaceae) // Functional Plant Biology. 2007. Vol. 34. P. 247–267.

ИЗУЧЕНИЕ УЧАСТКОВ ГЕНОМА УТОЧНЯЕТ И ИЗМЕНЯЕТ НАШИ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВИДАХ И ВИДООБРАЗОВАНИИ У РАСТЕНИЙ

Шнеер В.С.

Санкт-Петербург, Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН

В последние несколько лет технологический прогресс в молекулярных методах исследования геномов вывел изучение видов растений и процессов видообразования у них на новый уровень. Стало возможным перейти от исследования одного растения каждого вида (как было недавно) к изучению представительной выборки, изучать географическую и индивидуальную изменчивость, если есть необходимость. Расширяется набор участков генома, как в целом, так и каждой работе (в среднем).

Изучение видовых групп на стыке систематики и генетики с начала 90-х годов XX века проводилось главным образом в группах, включающих важные культурные виды (*Gossypium*, *Helianthus*, *Brassica*, *Glycine* и др.). Затем и группы дикорастущих видов, особенно немногие естественные полиплоиды недавнего происхождения (виды из родов *Cardamine*, *Saxifraga*, *Tragopogon* и др.) стали модельными для изучения многих вопросов природы, эволюции и жизни видов. За последние годы список таких групп расширился. Молекулярные исследования во многом обеспечили концептуальные изменения, происшедшие в представлениях о видах и видообразовании.

Еще лет 25 назад считали, что до 70–80% всех покрытосеменных и 95% папоротников – полиплоиды. Данные, накопленные с тех пор, в особенности с помощью молекулярных методов, показывают, что подавляющее большинство видов растений – полиплоиды, даже у имеющих низкое хромосомное число обнаружено много дублированных генов, и есть свидетельства, что дубликации когда-то подвергался целый геном. Актуальный прежде вопрос, является ли тот или иной вид полиплоидом, теперь может быть заменен вопросом сколько циклов полиплоидизации он претерпел. При этом, хотя аллополиплоиды все же преобладают, стало очевидно, что и аутополиплоиды (гомоплоиды) встречаются не так редко, как думали ранее, и возникают они чаще путем внутривидовой гибридизации с участием нередуцированных гамет, а не путем соматического удвоения хромосомного набора.

Традиционно многие зоологи вслед за Майром считали гибридизацию «ошибкой», нарушением в работе репродуктивных механизмов, а часто сталкивавшиеся с ней ботаники считали ее закономерной, внимательно изучали и придавали большое значение интрогрессии в процессах адаптации. Выявление гибридов затруднительно когда генетические различия между видами слабо выражены морфологически. Исследование участков генома позволяет идентифицировать гибридные особи в природе и находить их родителей. Картины, выявляемые при этом, как правило, в большей или меньшей мере отличаются от тех, что были получены при изучении скрещиваний в лабораториях видов дрозофилы и других модельных групп. Об опасности экстраполяции результатов экспериментальной гибридизации на то, что происходит в природе, предупреждали много лет назад (например, Скворцов, 1967). По современным оценкам вследствие гибридизации произошло не менее 50%, а гибридизируют между собой в настоящее время до 25%

всех видов растений. При этом распространена межвидовая гибридизация не во всех группах, примерно до трети семейств и шестая-седьмая часть всех родов покрытосеменных включает гибридизирующие виды. В то же время в некоторых группах растений (например, из рода *Gossypium*) гибриды были обнаружены там, где их не предполагали найти, между видами, разделенными, казалось бы, всеми возможными репродуктивными барьерами – географическим, биологическим, экологическим (Cronn, Wendel, 2003). При этом морфологически такие растения часто крайне сходны, так что даже был предложен термин «криптическая гибридизация». Оказалось, что и у животных интрогрессивная гибридизация встречается в большем числе групп животных, чем это предполагали ранее, и тоже распространена неравномерно, чаще – у птиц, у бабочек, но очень редко – у видов дрозофилы, главного модельного объекта в исследованиях видообразования, что наложило свой отпечаток на всю историю его изучения (Mallet, 2005).

Присутствие видов гибридного происхождения влияет на топологию деревьев при молекулярно-филогенетическом анализе. Ранее предлагалось заранее выявлять гибриды каким-либо способом и не включать в выборку или исключать их по расхождению топологии деревьев, построенных по хлоропластным и ядерным генам и затем исключать из филогенетических анализов. Впрочем, второй способ выявляет факт наличия гибридизации в группе, но не всегда оказывается эффективным для отыскания гибридных таксонов. Возможность брать в анализ множество растений и анализировать клонированные последовательности ITS1 и 2 – ядерных внутренних транскрибируемых спейсеров генов рибосомных РНК, представленных в ядре множеством копий, позволяет находить гибриды недавнего происхождения, содержащие еще не гомогенизированные согласованной эволюцией гаплотипы (варианты) последовательностей обоих родителей, которых можно таким образом идентифицировать абсолютно точно. Если последовательности уже подверглись гомогенизации, иногда степень ее может служить для грубой оценки времени возникновения гибрида. Нахождение множественных гаплотипов ITS у родительских видов свидетельствует, что и они представляют собой гибриды, что может проявляться значительной вариабельностью на морфологическом уровне. Нахождение у разных растений одного гибридного вида разных сочетаний гаплотипов ITS подтверждает множественное возникновение гибридов. В случае совсем молодых гибридов можно выявить родителей и при прямом секвенировании, без клонирования.

Для групп с частой гибридизацией (*Paeonia*, *Saxifraga*, *Armeria* и др.) характерна сетчатая эволюция, которую невозможно представить в виде филогенетических деревьев. Для этого были предложены филогенетические сети или сплитграфы, которые позволяют представлять альтернативные филогенетические пути и более адекватно моделировать эволюционную историю таксонов (см. Huson, Bryant, 2005).

Анализ последовательностей ДНК дает возможность проверить гипотезы об однократном или множественном происхождении того или иного признака – морфологического, типа опыления, экологической приуроченности и др. При изучении разновидностей, выделенных на основе одного признака, анализ ДНК позволяет определить, является ли этот признак приметой более глубоких генетических различий или лишь свидетельствует о наличии двух морф в пределах вида.

Нередка ситуация, когда распределение видов на филогенетическом древе, построенном по последовательностям, не согласуется с их группированием в системах рода. Впрочем, и мета-анализ данных, полученных для множества видов из разных групп растений и животных методами нумерической таксономии на множественных популяциях каждого вида, показал, что лишь половина фенотипических кластеров соответствует таксономическим видам (Rieseberg et al., 2006), было объяснено склонностью таксономистов к «видодробительству».

Тем не менее анализ последовательностей ДНК уже позволил во множестве групп животных обнаруживать в одном виде несколько криптических видов, тогда как у растений такой картины не выявляется. Часто обнаруживается, что несколько видов (тем более подвидов), близких, а иногда и предположительно не очень близких (из разных секций) не удастся различить по ITS, а тем более по хлоропластным генам. При исследовании видовых комплексов и сложных групп близких видов (таких, как в роде *Rosa*, например) вариабельность взятых участков генома как правило оказывается недостаточной, и в таких случаях прибегают дополнительно к методам мультилокусного анализа (AFLP, ISSR и др.), которые имеют свои недостатки и ограничения. В то же время, например, сочетание метода AFLP и анализа экспериментальных скрещиваний показало присутствие множества криптических морфологически неотличимых видов в двух арктических видах рода *Draba* (Grund et al., 2006), но такие примеры остаются пока единичными. Имеющихся молекулярных данных по растениям пока недостаточно, чтобы оценить в целом соответствуют ли они чаще позициям «дробителей» или «объединителей», но, возможно, скорое будущее это покажет.

Интенсивно ведутся работы, имеющие целью создать базу данных последовательностей ДНК, которые могли бы служить для молекулярной идентификации соответствующих видов животных и растений (ДНК-штрихкодов). Штрихкод должен отличать особей одного вида от всех прочих. Однако для этого должны быть определены по возможности четкие границы между видами. Так как между многими видами растений такие границы пока расплывчаты, для многих групп определение молекулярных идентификаторов должно происходить одновременно (или поочередно) с их таксономической проработкой. Для оценки принадлежности образ-

цов к одному или к разным видам пока предложены пороговые значения уровней дивергенции последовательностей, но ведется поиск и других критериев (Little, Stevenson, 2007).

У животных для большинства групп уже выявлены участки геномов, проявляющие оптимальную вариабельность на видовом и межвидовом уровнях (фрагмент митохондриального гена субъединицы 1 цитохром С оксидазы – CO1, 16S рРНК, цитохром b и др.). Однако у растений вариабельность митохондриального и хлоропластного геномов (представленных во множестве копий в клетке, что облегчает амплификацию ДНК) обычно ниже, чем ядерного, и оптимальные участки пока не найдены. Для работ на видовом уровне пока чаще всего используются некодирующие участки (что влечет свои сложности из-за обилия делеций и инсерций) – ядерные ITS, а также хлоропластные интроны и спейсеры, (*rpl16*, *rps16*, *rpoC1*, *trnK*, *trnL*, *trnL-trnF*, *trnT-trnL*, *atpB-rbcL*, *psbA-trnH*). Вариабельность ITS1 и 2 оказывается, как правило, выше, чем любого из ныне используемых хлоропластных участков, и он остается самым употребляемым. По некоторым оценкам, в хлоропластных геномах есть и более вариабельные участки, еще не использовавшиеся в молекулярной филогенетике (Shaw et al., 2007). Ценную информацию могут дать низко-копийные и тем более уникальные ядерные гены, и уже получены хорошие результаты с некоторыми из них (напр., Doust et al., 2007). Однако такие гены невозможно выделить из гербарного материала, что ограничивает их широкое использование. К настоящему времени предложено три варианта наборов последовательностей в качестве кандидатов на то, чтобы стать ДНК-штрихкодами: 1) *rpoC1*, *rpoB*, *matK*; 2) *rpoC1*, *matK*, *trnH-psbA*; 3) *matK*, *trnH-psbA* (Chase et al., 2007; Lahaye et al., 2008), однако требуются дополнительные исследования, так как каждый из этих участков по отдельности не дает достаточного разрешения в тех или иных группах растений, и их сочетание часто не повышает его.

Хлоропластные участки и ITS можно амплифицировать из образцов, собранных много лет назад (100 лет, а иногда и более, если они были должным образом высушены). Это позволяет собрать возможно более полную выборку, иногда включая и типовые образцы. Представляют интерес и образцы, собранные до того как многие районы подверглись интенсивным антропогенным изменениям, с их помощью можно проследить судьбу и эволюцию популяционного состава некоторых видов, в том числе инвазивных. Возможность сразу взять в исследование сотню образцов и более позволяет эффективно работать с крупными родами, выделяя клады близородственных видов, которые могут составить основу для дальнейших исследований. Это особенно ценно в тех нередких случаях, когда крупные роды представляют более научный чем практический интерес и давно не проводилось их монографическое изучение. В работах последних лет последовательности ДНК дали свидетельства в пользу широкого или узкого понимания того или иного вида во многих группах растений, например, *Alisma plantago-aquatica* (Jacobson, Hedrén, 2007), *Lilium carniolicum* (Rešetnik et al., 2007) и других.

Работа подготовлена в соответствии с исследованиями, проводимыми по программе «Динамика генофондов» и поддержанными Российским фондом фундаментальных исследований (проект №06-04-48399)

Литература

- Скворцов А.К. Основные этапы развития представлений о виде // Бюлл. МОИП Отд. биол. 1967. Т.72. №5. С.11–27.
- Chase M.W., Cowan R.S., Hollingsworth P.M. et al. // A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants // Taxon 2007. Vol.56. №2. P. 295–299.
- Cronn R., Wendel J.F. Cryptic trysts, genomic mergers, and plant speciation // New Phytologist 2003. Vol.161. P.133–142.
- Doust A.N., Penly A.M., Jacobs S.W.L., Kellogg E.A. Congruence, conflict, and polyploidization shown by nuclear and chloroplast markers in the monophyletic “bristle clade” (Paniceae, Panicoideae, Poaceae) // Syst. Bot. 2007. Vol. 32. №3. P. 531–544
- Grund H.H., Kjolner S., Rieseberg L.H., Brochmann C. High biological species diversity in the arctic flora // Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006. Vol.103. №4. P.972–975.
- Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2005. Vol.23. №2. P.254–267.
- Jacobson A., Hedrén M. Phylogenetic relationships in *Alisma* (*Alismataceae*) based on RAPDs, and sequence data from ITS and trnL // Plant Syst. Evol. 2007. Vol. 265. №1. P. 27–44.
- Lahaye R., van der Bank M., Bogarin D. et al. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots // Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2008 doi_10.1073_pnas.0709936105
- Little D.P., Stevenson D.Wm. A comparison of algorithms for the identification of specimens using DNA barcodes: examples from gymnosperms // Cladistics 2007. Vol.23. №1. P.1–21.
- Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome // Trends Ecol. Evol. 2005. Vol. 20. №5. P.229–237.
- Rešetnik I., Liber Z., Satović Z., Cigić P., Nikolić T. Molecular phylogeny and systematics of the *Lilium carniolicum* group (*Liliaceae*) based on nuclear ITS sequences // Plant Syst. Evol. 2007. Vol. 265. №1. P. 45–58.
- Rieseberg L.H., Wood T.E., Baack E. The nature of plant species // Nature 2006. Vol.440. P.524–427.
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III // Amer. J. Bot. 2007. Vol. 94. № 3. P. 275–288.

ФИЛОГЕНИЯ РОДА POLYGONUM L. S.STR. НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ITS1-2 ЯДЕРНОЙ РДНК

Юрцева О.В.¹, Боброва В.К.², Войлокова В.Н.³, Троицкий А.В.²¹Москва, Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова²НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова³ГБС им. Н.В. Цицина РАН

Род *Polygonum* L. s. str. насчитывает около 80 видов, широко распространенных в умеренных областях Северного полушария, отчасти — в областях с субтропическим климатом. Для территории бывшего СССР приводят около 60 видов (Комаров, 1936, Цвелев, 1989б, 1996, Черепанов, 1995), для Европы — около 30 (Webb, Chater, 1964; Akeroyd, Webb, Chater, 1993; Цвелев, 1996), для Северной Америки — 33 (Costea et al, [http:// www.eflora.org](http://www.eflora.org)), для Китая — 16 (Anjen Li et al, 2003). Хотя на территории бывшего СССР род *Polygonum* уже не раз был предметом таксономического изучения, состав таксонов и филогенетические отношения видов не вполне ясны. На территории Евразии наиболее обширна секция *Polygonum*, которую В.Л. Комаров (1936) разделил на 8 рядов, а Н.Н. Цвелев — на 10 подсекций, выделив из нее секции *Corrigioloides*, *Paronichoides* и *Plebeja* (Цвелев, 1979, 1987, 1989а, б, 1996, 1989). Таксономия и филогенетические связи многих видов из Средней Азии требуют уточнения (Байтенов, Павлов, 1960; Чукавина, 1971; Бородин, 1989), особенно в связи с близостью *Polygonum* к роду *Atraphaxis* (Frye, Kron, 2003). В Северной Америке растут представители секций *Polygonum* и *Duravia*, последние близки к роду *Polygonella* (L.-P. Ronse Decraene et al. (2004).

Наши данные представляют предварительные результаты молекулярно-филогенетического исследования рода *Polygonum* L. s. str. на основании изучения нуклеотидного полиморфизма ITS1-2 ядерной рДНК у 95 образцов 55 видов рода *Polygonum* L. s.str., преимущественно из секции *Polygonum*. С целью определения степени генетической гетерогенности рода *Polygonum* L. s.str. проведен анализ нуклеотидного полиморфизма внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1, ITS2), а также гена 5,8S рРНК. При построении филогенетических деревьев использованы два набора: 77-704, включающий 77 образцов, и 99-704, включающий 99 образцов, из них 4 вида из рода *Persicaria*. Набор 77-704 получен из набора 99-704 исключением образцов/видов предположительно гибридной природы. Хотя увеличение числа анализируемых таксонов в общем случае увеличивает надежность филогенетических реконструкций, оно может и понижать ее при включении в анализ видов (образцов) с нестабильным положением в деревьях, построенных разными методами и/или имеющих слабую поддержку. Можно ожидать, что исключение таких образцов из рассмотрения повысило бы общую надежность филогенетической реконструкции.

В качестве внешней группы использованы *Persicaria hydropiper*, *P. virginiana*, *P. filiforme*, *P. neophiliforme*. Длина выравниваний составляла 704 позиции. У видов *Persicaria* участки ITS1-2 имеют несколько протяженных вставок, исключение этих видов приводит к уменьшению длины выравниваний до 654 позиций (наборы 73-654 и 95-654). Набор 73-654 имеет 158 вариабельных позиций, из которых 96 парсимонно информативны; усредненный нуклеотидный состав последовательностей – 13,7%Т, 35,4%С, 20,6%А, 30,3%Г.

Филогенетические деревья по ITS1-2 были построены: 1) методом объединения соседей NJ и оценкой статистической поддержки узлов методом бутстрепа (программа TREECON v.1.3b); 2) методом максимальной экономии MP программой TNT v.1.1 с учетом пробелов и с оценкой поддержки узлов методом джекнайфа и по индексу Бремера и 3) байесовским анализом ВА с помощью программы MrBayes v.3.1.1.

Топологии деревьев, построенных разными методами и для двух наборов данных, согласуются в областях с хорошей поддержкой. Наиболее высокую поддержку имеет дерево ВА 77-704 (рис.), в нем 7 внутренних узлов имеют поддержку (апостериорную вероятность) <40%, увеличение числа образцов в дереве ВА 99-704 (не представлено) увеличивает число таких узлов до 12. MP деревья в целом наименее разрешены, при этом хорошего соответствия в оценке надежности реконструкции по значениям джекнайф поддержки и индекса Бремера не наблюдается. Однако базальная часть дерева MP 77-704 (*P. alpestre*, *P. toktogolicum*, *P. atraphaxiforme*, *P. douglasii*) имеет более высокую поддержку, чем в ВА деревьях, имеющих в этой части иной порядок ветвления. Это позволяет в данном случае отдать предпочтение топологии MP дерева.

Суммируем результаты филогенетических реконструкций. Представители рода *Polygonum* L. s.str. образуют кладу со 100% поддержкой, что подтверждает значительное генетическое единство внутри группы видов, принадлежащих к роду *Polygonum* L. s.str. Базальное положение в ней занимает града: 1) *P. atraphaxiforme* и *P. toktogolicum*, кустарнички с кожистыми листьями и крупными околоцветниками, внешне близкие к *Atraphaxis*; 2) однолетник *P. douglasii* из секции *Duravia* с повислыми цветками и гладкими глянцевыми плодами; 3) многолетник *P. alpestre* из подсекции *Alpestris* секции *Polygonum* (Цвелев, 1989а), заслуживающей более высокого ранга. Дистальнее со 100% поддержкой отходит большая клада, объединяющая преимущественно однолетние виды секции *Polygonum*. В ее основании одной или двумя группами отходят североамериканские виды: 1) *P. sawatchense* и *P. erectum* (90–100% поддержка) и 2) *P. buxiforme*, *P. achoreum*, *P. ramosissimum* (поддержка 69–85%). Для этой группы видов характерна сизая или желтоватая окраска, крупные овальные или ланцетные листья, желтовато-зеленый околоцветник, обычно скрывающий трехгранный

гладкий, папиллозный или шероховатый плод. Их можно выделить в особую секцию или включить в состав секции *Polygonum*.

Обширная клада, отходящая выше с поддержкой от 93 до 100%, объединяет однолетние виды, относящиеся по Н.Н. Цвелеву к секции *Polygonum*. Исключение составляют 2 образца *P. acerosum*, что требует уточнения их видовой принадлежности.

Положение на деревьях всех прочих видов в целом согласуется с системой секции *Polygonum* рода *Polygonum* (Цвелев, 1979, 1987, 1989а, б, 1996). На ВА и NJ деревьях самую высокую поддержку (94–100%) имеют субклады, соответствующие подсекциям *Maritima* (*P. maritimum*, *P. oxyspermum* и др.), *Setosa* (*P. luzuloides*), *Patula* (*P. patulum*, *P. prolificum* и др.). К последней близки представители подсекции *Acetosa*. К субкладам *Patula* и *Acetosa* примыкают *P. arenarium* и большинство образцов *P. argyrocoleon* из подсекции *Arenaria*, *P. floribundum* из подсекции *Floribunda*. Небольшая степень морфологических различий этих групп соответствует их генетической близости.

На NJ и ВА деревьях в один обширный кластер, хотя и поддержкой менее 50%, входят *P. aviculare*, *P. arenastrum*, *P. calcatum*, *P. monspeliense*, *P. neglectum*, *P. agrestinum*, *P. boreale* и другие виды подсекции *Polygonum*. В пределах данного кластера хорошо обособлены американские и евразийские виды подсекции *Humifusa* с широкими раструбами почти без жилок, с 5 тычинками и полупрозрачным околоцветником. В пределах подсекции *Polygonum* вместе группируются образцы *P. equisetiforme* и *P. balansae*, близкие к *P. aviculare* по структуре ITS1-2. Следует отметить, что в пределах данной клады образцы группируются не столько по видовой принадлежности, сколько по регионам (Скандинавия, Поволжье, Приморье). Видимо, дифференциация на мелкие виды (расы) шла параллельно и независимо в разных участках обширного ареала данной группы.

Один из образцов *P. salsugineum* (*P. sals.* VS-6) из подсекции *Salsuginea* занимает на NJ и ВА-деревьях весьма обособленное положение, что согласуется с морфологической обособленностью вида: у него желтый околоцветник, ланцетные плоды, линейные листья, трубчато-воронковидные раструбы. Второй образец *P. salsugineum* из того же места в деревьях из 99 последовательностей оказался среди образцов *P. aschersonianum* и *P. arenastrum*, а в деревьях из 77 последовательностей попал в группу родства *P. aviculare*. Очевидно, что в образовании этого скрытого гибрида, морфологически неотличимого от *P. salsugineum*, как и в образовании *P. aschersonianum*, приняли участие не только *P. salsugineum* и *P. patulum*, как это было показано ранее методами RAPD и ISSR-анализа (Войлокова и др., 2006), но и *P. aviculare* L. s.l.

На возможное гибридогенное и политопное происхождение ряда других таксонов при участии представителей разных подсекций указывает положение их разных образцов в разных кладах на дереве 99-704. Примерами служат образцы *P. rurivagum* (Тува и Уссурийск), *P. neglectum* (Ленинград, Тува и Приморье), оказавшиеся, соответственно, в кладах *Polygonum* и *Patula*; образцы *P. raii* subsp. *norvegicum* (*P. norvegicum*, Белое море, Титовка) и *P. raii* subsp. *raii* (*P. raii*, Великобритания), оказавшиеся в кладах *Polygonum* и *Maritima*; *P. patuliforme* из подсекции *Polygonum*, оказавшийся в кладе *Patula*.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект 06-04-48701).

Литература

- Байтенов В. М., Павлов Н. В. Род *Polygonum* L. // Флора Казахстана. Т. 3. Алма-Ата, 1960. С. 147–176.
- Бородин А. Е. *Polygonaceae* Juss. // Растения Центральной Азии. По материалам Ботанического института им. В.Л.Комарова. Вып. 9. Л., 1989. С. 77–130.
- Войлокова В.Н., Юрцева О. В., Боброва В. К., Троицкий А. В. Генетическая гетерогенность *Polygonum salsugineum*, *P. aschersonianum*, *P. patulum*, *P. aviculare* и *P. arenastrum* в связи с межвидовой гибридизацией // Роль Ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира азиатской России: настоящее и будущее. Материалы Всероссийской конференции, посвященной 60-летию Центрального сибирского ботанического сада (Новосибирск, 17—июля 2006 г.). Новосибирск. 2006. С. 60–62.
- Комаров В. Л. Род *Polygonum* L.s.l. // Флора СССР. М., Л.: 1936. Т. 5. С. 594–701.
- Цвелев Н. Н. О видах секции *Polygonum* рода *Polygonum* L. в Европейской части СССР // Новости систематики высших растений. Т. 15. Л.: 1979. С. 128.
- Цвелев Н. Н. Заметки о *Polygonaceae* во Флоре Дальнего Востока // Новости систематики высших растений. Л., 1987. Т. 24. С. 72—79.
- Цвелев Н. Н. Род *Polygonum* L. sensu lato (*Polygonaceae*) на Кавказе // Новости систематики высших растений. Л., 1989а. Т. 26. С. 63—73.
- Цвелев Н. Н. *Polygonum* L. // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Л., 1989б. Т. 4. С. 103—117.
- Цвелев Н. Н. *Polygonum* L. // Флора Восточной Европы. Т. 9. СПб.: «Мир и семья-95», 1996. С. 136—150.
- Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). С.-Петербург, «Мир и семья-95», 1995. 989 с.
- Чукавина А. П. Род *Polygonum* L.. Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры. Т. 2. Ташкент, 1971. С. 201—220.
- Akeroyd J. R., Webb D. A., Chater A. O. *Polygonum* L. // Flora Europaea. T.1. 2 ed. Cambridge, 1993. P. 91—97.

Anjen Li, Grabovskaya-Borodina A.E., Hong S.-P., McNeil J., Park C.-W. *Polygonum* L. // Flora of China, 2003. Vol. 5. P. 278—315.

Costea M., Tardif F.J., Hinds H. R. *Polygonum* L. // Flora of North America. [http:// www.eflora.org](http://www.eflora.org)

Frye A.S.L., Kron K.A. rbcL Phylogeny and Character Evolution in Polygonaceae // Systematic Botany, 2003. Vol. 28., N 2. P. 326—332.

Ronse Decraene L.-P., Hong S.-P., Smets E. What is the taxonomic status of *Polygonella*? Evidence from floral morphology // Ann. Missouri Bot. Gard. 2004. 91: 320—345.

Webb D. A., Chater A. O. *Polygonum* L. // Flora Europaea. T.1. Cambridge, 1964. P. 76—80.

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМАТИКА И БИОСИСТЕМАТИКА

Абдуллаев А.А., Ризаева С.М., Эрназарова З.А., Клят В.П., Курязов З.Б. НОВАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ТАКСОНОМИИ РОДА <i>Gossypium</i> L. (ХЛОПЧАТНИК)	5
Амосова А.В., Бадаева Е.Д. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА GISH ДЛЯ АНАЛИЗА БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ГЕНОМОВ ТЕТРАПЛОИДНЫХ И ГЕКСАПЛОИДНЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦЫ	8
Арефьева Л.П., Семихов В.Ф., Новожилова О.А., Мишанова Е.В. СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РОДА <i>Pinus</i> L. (Pinaceae Adans.) на ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ СЕМЯН	9
Арсланова Л.Р., Калашиник Н.А. КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕДКИХ И ЭНДЕМИЧНЫХ УРАЛЬСКИХ ВИДОВ РОДА <i>Oxytropis</i> DC.	11
Баркалов В.Ю., Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г., Кожевникова З.В. КАРИОЛОГИЯ ФЛОРЫ САХАЛИНА И КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ: ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИЗУЧЕНИЕ	14
Бурляева М.О., Вишнякова М.А., Алпатьева Н.В., Чесноков Ю.В. К РЕШЕНИЮ ВОПРОСОВ БИОСИСТЕМАТИКИ <i>Lathyrus sativus</i> L. (Fabaceae)	17
Волкова С.А., Горовой П.Г. КАРИОТИПЫ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ	20
Герус Д.Е., Агафонов А.В. РЕГИСТРАЦИЯ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ И МОДЕЛИРОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПРОЦЕССОВ СРЕДИ СИБИРСКИХ S _n N-ГЕНОМНЫХ ВИДОВ РОДА <i>ELYMUS</i> (TRITICEAE: POACEAE)	22
Глутиков А.А., Моторыкина Т.Н., Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г. К ИЗУЧЕНИЮ ЧИСЕЛ ХРОМОСОМ У ЛАПЧАТОК (<i>POTENTILLA</i> , <i>ROSACEAE</i>) И МЯТЛИКОВ (<i>POA</i> , <i>POACEAE</i>) В БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ И НА ДАЛЬНОМ ВОСТОКЕ	25
Дегтярева Г.В., Ключиков Е.В., Вальехо-Роман К.М., Самигуллин Т.Х., Пименов М.Г. СИСТЕМАТИКА <i>ELAEOSTICTA</i> (<i>UMBELLIFERAE</i>) И БЛИЗКИХ РОДОВ В СВЕТЕ НОВЫХ ДАННЫХ ПО НУКЛЕОТИДНЫМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМ СПЕЙСЕРОВ ITS ЯД-РДНК И <i>PSBA-TRMН</i> ХПДНК	28
Зошук Н.В., Зошук С.А., Амосова А.В., Бадаева Е.Д. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК SPFL1 И SPFL2 ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЭВОЛЮЦИИ ПШЕНИЦ И ЭГИЛОПСОВ МЕТОДОМ ГИБРИДИЗАЦИИ <i>IN SITU</i>	29
Зошук С.А., Зошук Н.В., Бадаева Е.Д. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ ЗЛАКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОВОГО СЕМЕЙСТВА ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ FAT1	31
Калаев В.Н., Логачева А.А. ЯДРЫШКОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ АВТОТРАНСПОРТНЫМ КОМПЛЕКСОМ	34
Калашиник Н.А. КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЮЖНОУРАЛЬСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА СОСНОВЫЕ (<i>PINACEAE</i> LINDL.)	34
Ким Е.С., Носов Н.Н., Мачс Э.М., Пунина Е.О., Родионов А.В. О РОДЕ <i>COLPODIUM SENSU LATO</i> (<i>POACEAE</i>): МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	37
Коцурба В.В., Пробатова Н.С., Франк Блаттнер. ПОЛИМОРФИЗМ <i>MILIUM EFFUSUM</i> L. (<i>POACEAE</i>) В ГЕОГРАФИЧЕСКОМ АРЕАЛЕ ВИДА, ПО ДАННЫМ ITS СЕКВЕНИРОВАНИЯ РИБОСОМАЛЬНОЙ ДНК	39
Красильников Е.М., Родионов А.В. РОДА <i>QUILLAJA</i> С ДРУГИМИ ТАКСОНАМИ ПОРЯДКА <i>FABALES</i> И <i>ROSALES</i> ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЯДЕРНЫХ ITS И РАЙОНОВ <i>TRNL-TRNF</i> И <i>PSBA-TRMН</i> ГЕНОМА ХЛОРОПЛАСТОВ	42
Крюков А. А., Гельтман Д. В., Родионов А. В. МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОДРОДА <i>ESULA</i> РОДА <i>EUPHORBIA</i> (<i>EUPHORBACEAE</i>)	45
Малаева Е.В., Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н., Коновалова Л.Н., Молканова О.И. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ВОПРОСОВ СИСТЕМАТИКИ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ АКТИНИДИИ ...	47
Маслова Е.В. О МОЛЕКУЛЯРНОМ И МОРФОЛОГИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ ВИДОВ РОДА <i>GALEOPSIS</i> (<i>LAMIACEAE</i>) В ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ	50
Михайлова Ю.В., Мачс Э.М., Родионов А.В., Разживин В.Ю. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ITS НЕКОТОРЫХ ОСТРОЛОДОЧНИКОВ КРАЙНЕГО СЕВЕРА	52
Носов Н.Н., Ким Е.С., Мачс Э.М., Пунина Е.О., Пробатова Н.С., Родионов А.В. АНАЛИЗ РОДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ В РОДЕ <i>POA</i> L. S.L. ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ВНУТРЕННИХ ТРАНСКРИБИРУЕМЫХ СПЕЙСЕРОВ ITS1 И ITS2 ЯДЕРНОГО ГЕНА 45S РРНК	55
Перчук И.Н., Лоскутов И.Г. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СКАНДИНАВСКИХ СОРТОВ ОВСА ПОСЕВНОГО ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР	58

Полежаева М.А., Семериков В.Л. НОВЫЕ ДАННЫЕ О ПЛЕЙСТОЦЕНОВОМ РЕФУГИУМЕ ЛЕСНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ОХОТСКОГО МОРЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПОДХОД	59
Потокина Е.К., Александрова Т.Г. МЕТОДЫ КЛАССИФИКАЦИИ ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ	62
Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г. Кожевникова З.В., Кожевников А.Е., Баркалов В.Ю., Шатохина А.В., Чепиного В.В., Гнутиков А.А., Селедец В.П. ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ ЧИСЕЛ ХРОМОСОМ У ВИДОВ ФЛОРЫ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА И ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ В 2006 – 2008 гг.	65
Пунина Е.О., Мачс Э.М., Мордак Е.В., Мякошина Ю.А., Родионов А.В. РОД <i>RAEONIA</i> (<i>RAEONIACEAE</i>) В РОССИИ И НА СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ: РЕВИЗИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ КАРИОСИСТЕМАТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ СИСТЕМАТИКИ	68
Райко М.П., Глускер Г.М., Родионов А.В. О ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЯХ В ТРИБЕ <i>RHALARIDEAE</i>	71
Семихов В.Ф., Арефьева Л.П., Новожилова О.А., Мишанова Е.В. СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РОДА <i>PINUS</i> L. (<i>PINACEAE ADANS.</i>) НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ БЕЛКОВ СЕМЯН	72
Синицына Т.А., Фризен Н.В. ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ СЕКЦИИ <i>RHIZIRIDEUM</i> G. DON FIL. EX W.D.J. КОСН РОДА <i>ALLIUM</i> L.	74
Скворцов А.К. , Беэр С.С., Шанцер И.А. ПОЛИМОРФИЗМ БАЛЬЗАМИЧЕСКИХ ТОПОЛЕЙ (<i>POPULUS</i> L. СЕКЦИЯ <i>TASAMANASA</i>) ПО ДАННЫМ ISSR МАРКИРОВАНИЯ	76
Тюпа Н.Б., Родионов А.В. ЭВОЛЮЦИОННО -КОНСЕРВАТИВНЫЙ ГЕН 5.8S РРНК В ГЕНОМЕ <i>AVENA</i> И ДРУГИХ ЗЛАКОВ	77
Федорова Т.А., Вознесенская Е.В., Ролсон Э.Х., Эдвардс Д.Э. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ СЕМЕЙСТВА <i>SLEOMASEAE</i> В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ МОРФОЛОГИИ, СИСТЕМАТИКИ И ЭВОЛЮЦИИ С4 ФОТОСИНТЕЗА	79
Шнеер В.С. ИЗУЧЕНИЕ УЧАСТКОВ ГЕНОМА УТОЧНЯЕТ И ИЗМЕНЯЕТ НАШИ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВИДАХ И ВИДООБРАЗОВАНИИ У РАСТЕНИЙ	81
Юрцева О.В., Боброва В.К., Войлокова В.Н., Троицкий А.В. ФИЛОГЕНИЯ РОДА <i>POLYGONUM</i> L. S.STR. НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ITS1-2 ЯДЕРНОЙ РДНК	84

СЕКЦИЯ ФЛОРА И СИСТЕМАТИКА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

ПОДСЕКЦИЯ СИСТЕМАТИКА

Гуреева И.И., Page С.Н. ПРОБЛЕМЫ ТИПИФИКАЦИИ ОРЛЯКА	89
Дыминакова О.С. ЕСТЕСТВЕННАЯ И ИСКУССТВЕННАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ В КОМПЛЕКСЕ <i>SAXIFRAGA CERNUA</i> L. – <i>S. SIBIRICA</i> L. (СЕМ. <i>SAXIFRAGACEAE</i>) НА УРАЛЕ	91
Енущенко И.В. ОПЫТ ДРОБЛЕНИЯ РОДА <i>DESCHAMPSIA</i> BEAUV. СИБИРИ НА ГРУППЫ ВИДОВ ПО ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКОМУ ПРИЗНАКУ	94
Ефимов П.Г. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРАНИЦ РОДА <i>PLATANThERA</i> (<i>ORCHIDACEAE</i> – <i>ORCHIDINAE</i>) И БЛИЗКИХ РОДОВ	95
Ефимова В.А. ИЗМЕНЕНИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ ОБ ОСУЩЕСТВЛЕНИИ ФИЛОГЕНЕЗА	99
Ковтонюк Н.К. СЕКЦИЯ <i>CORTUSOIDES</i> WALF.F. РОДА <i>PRIMULA</i> L. ВО ФЛОРЕ РОССИИ	100
Крестовская Т.В. О ФИТОГЕОГРАФИИ РОДА <i>STACHYS</i> L. (<i>LABIATAE</i>)	102
Курбатский В.И. К ИЗУЧЕНИЮ ФИЛОГЕНИИ СЕКЦИЙ <i>MULTIFIDAE</i> (RYDB.) JUZ. И <i>NIVEAE</i> (RYDB.) JUZ. РОДА <i>POTENTILLA</i> L.	105
Михайлова М.А. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ В РОДЕ <i>CORYDALIS</i> DC. (СЕМ. <i>FUMARIACEAE</i>)	106
Михеев А.Д. О СИМПАТРИЧЕСКОМ ВИДООБРАЗОВАНИИ НА ПРИМЕРЕ РОДОВ <i>PAPAVER</i> И <i>ROEMERIA</i> (<i>PAPAVERACEAE</i>)	109
Никифорова О.Д. ВИДЫ РЯДА <i>SIBIRICAE</i> РОДА <i>MERTENSIA</i> (<i>BORAGINACEAE</i>)	111
Николин Е.Г. ФЛОРА ЯНО-ИНДИГИРСКОГО РАЙОНА (СЕВЕРО-ВОСТОЧНАЯ ЯКУТИЯ)	114
Овчинникова С.В. ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИДОВ ТРИБЫ <i>ERITRICHIEAE</i> (<i>BORAGINACEAE</i>) ЕВРАЗИИ	117
Орлова Л.В. К СИСТЕМАТИКЕ И НОМЕНКЛАТУРЕ РОССИЙСКИХ ВИДОВ СОСНОВЫХ (<i>PINACEAE</i> LINDL.)	120
Пименов М.Г. СИСТЕМАТИКА ЗОНТИЧНЫХ (<i>UMBELLIFERAE/APIACEAE</i>) НА ПЕРЕПУТЬЕ	123

<i>Потемкин О.Н.</i> ШИРОТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЕЛИ СИБИРСКОЙ (<i>PICEA OBOVATA</i> LEDEB.): К ВОПРОСУ О СТРУКТУРЕ ПОПУЛЯЦИЙ И ТАКСОНОМИИ	126
<i>Савинов И.А.</i> СИСТЕМА И ФИЛОГЕНИЯ ПОРЯДКА <i>CELASTRALES</i> : КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД	128
<i>Селедец В.П., Пробатова Н.С.</i> АНАЛИЗ ЭКОАРЕАЛОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЗЛАКОВ (НА ПРИМЕРЕ ФЛОРЫ РОССИЙСКОГО ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА)	130
<i>Сосков Ю.Д., Кочегина А.А.</i> РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О СОДЕРЖАНИИ ЗАКОНА ДИВЕРГЕНЦИИ ЧАРЛЬЗА ДАРВИНА	133
<i>Сушенцов О.Е.</i> ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ РОДА <i>PULSATILA</i> (MILL.) (<i>RANUNCULACEAE</i>) УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА	136
<i>Телепова-Тексье М.Н.</i> ВКЛАД В ИЗУЧЕНИЕ ОРХИДНЫХ ЛАОСА, КАМБОДЖИ И ВЬЕТНАМА: РОД <i>АСАМРЕ</i> LINDL. (<i>ORCHIDACEAE</i> JUSS.)	139
<i>Цыренова Д.Ю.</i> ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМА АМУРСКИХ ВИДОВ РОДА <i>GERANIUM</i> (<i>GERANIACEAE</i>)	140
<i>Чупов В.С.</i> ВОЗМОЖНАЯ ОБЩАЯ КОНЦЕПЦИЯ МАКРОЭВОЛЮЦИОННОГО ПРОЦЕССА У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ ПО ДАННЫМ СОВРЕМЕННОГО СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	143
<i>Шанцер И.А.</i> ГИБРИДИЗАЦИЯ И СЕТЧАТАЯ ЭВОЛЮЦИЯ В РОДЕ <i>ROSA</i>	146
<i>Шибнева И.В.</i> ВИДЫ РОДА <i>LIPARIS</i> (<i>ORCHIDACEAE</i>) НА ЮГЕ МАТЕРИКОВОЙ ЧАСТИ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ	148
<i>Шурова Е.А.</i> О РАСПРОСТРАНЕНИИ НЕКОТОРЫХ ВЫСОКОГОРНЫХ ВИДОВ ЯСКОЛОК НА УРАЛЕ	150

ПОДСЕКЦИЯ ФЛОРА

<i>Алиев Х.У.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЛОРЫ БУКОВЫХ ЛЕСОВ ДАГЕСТАНА	152
<i>Байков К.С.</i> ФИТОХОРИОНЫ ЮЖНОЙ СИБИРИ	153
<i>Болотова Я.В.</i> ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ	156
<i>Вейсберг Е.И.</i> ФЛОРИСТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОСУДИСТЫХ ГИДРОФИТОВ ВОДОЕМОВ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ	157
<i>Виноградова Ю.К.</i> ИНВАЗИОННЫЙ КОМПОНЕНТ ФЛОРЫ СРЕДНЕЙ РОССИИ (ГИПОТЕЗЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ)	160
<i>Гельтман Д.В.</i> О НЕКОТОРЫХ СВЯЗЯХ ВО ФЛОРЕ СЕВЕРНОГО ПОЛУШАРИЯ НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ РОДА <i>EUPHORBIA</i> L. (<i>EUPHORBACEAE</i>)	162
<i>Григорьевская А.Я., Прохорова О.В.</i> СИНАНТРОПИЗАЦИЯ ФЛОРЫ ЦЕЛИННЫХ СТЕПЕЙ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ	165
<i>Еленевский А.Г., Радыгина В.И.</i> СРАВНЕНИЕ КАЛЬЦЕФИЛЬНЫХ ФЛОР СРЕДНЕРУССКОЙ И ПРИВОЛЖСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТЕЙ	168
<i>Золотарева Н.В.</i> ФЛОРА РЕЛИКТОВЫХ ГОРНЫХ СТЕПЕЙ УРАЛА НА СЕВЕРНОМ ПРЕДЕЛЕ ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЯ	169
<i>Куликов П.В.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЛОР ЮЖНОГО УРАЛА В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМАМИ ФЛОРИСТИЧЕСКОГО РАЙОНИРОВАНИЯ	172
<i>Мамонтов А.К.</i> КРЫМСКО-КАВКАЗСКИЕ ВИДЫ ВО ФЛОРЕ ЮГО-ВОСТОКА БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	176
<i>Муртазалиев Р.А.</i> ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИТОГИ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ ФЛОРЫ ДАГЕСТАНА	179
<i>Сенников А.Н., Куртто А., Лампинен Р., Утила П.</i> ОБНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ПРОЕКТА ATLAS FLORAE EUROPAEAE В ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЕ	181
<i>Сытин А.К.</i> СТРУКТУРА БОТАНИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ АСТРАГАЛОВ КАВКАЗА	183
<i>Цепкова Н.Л., Бондаренко С.В., Калашникова Л.М.</i> НЕКОТОРЫЕ РЕДКИЕ И НОВЫЕ ВИДЫ ФЛОРЫ КАБАРДИНО-БАЛКАРИИ (ЦЕНТРАЛЬНЫЙ КАВКАЗ)	185
<i>Читанова С.М.</i> ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФЛОРЫ КОЛХИДЫ	187
<i>Чкалов А.В.</i> К ВОПРОСУ О ПОВОЛЖСКОМ ЭНДЕМИЗМЕ РОДА МАНЖЕТКА (<i>ALCHEMILLA</i> L.)	189
<i>Шеримбетов С.Г.</i> НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ФЛОРИСТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЮГО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ОСУШЕННОГО ДНА АРАЛЬСКОГО МОРЯ	192
<i>Шлотгауэр С.Д.</i> ЭВОЛЮЦИЯ ВЫСОКОГОРНОЙ ФЛОРЫ ЗАПАДНОЙ ПАЦИФИКИ	194
<i>Юрова Э.А.</i> НАХОДКИ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В НОВГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	196

СЕКЦИЯ ПАЛЕОБОТАНИКА

<i>Алексеев П.И.</i> СОСТАВ ПОЗДНЕМЕЛОВОЙ ФЛОРЫ МЕСТОНАХОЖДЕНИЯ АНТИБЕС (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ)	199
<i>Афонин М.А., Блохина Н.И.</i> ИСКОПАЕМЫЕ ДРЕВЕСИНЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ <i>QSEQUOIOIDEAE</i> (<i>CUPRESSACEAE</i>) ИЗ МЕЛОВЫХ И ТРЕТИЧНЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ	201
<i>Блохина Н.И., Афонин М.А., Бондаренко О.В.</i> ИСКОПАЕМАЯ КЕТЕЛЕЕРИЯ (СОСНОВЫЕ) НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ	203
<i>Головнёва Л.Б.</i> ОБРАЗОВАНИЕ ПОЗДНЕМЕЛОВОЙ БОРЕАЛЬНОЙ ФЛОРЫ ЦВЕТКОВЫХ В СЕВЕРНОЙ АЗИИ	206
<i>Маслова Н.П.</i> РЕКОНСТРУКЦИЯ ИСКОПАЕМЫХ ПЛАТАНОИДНЫХ РАСТЕНИЙ ПО ЛИСТЬЯМ И РЕПРОДУКТИВНЫМ ОРГАНАМ: ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ НАХОДОК	209
<i>Носова Н.В.</i> МЕЗОЗОЙСКИЙ РОД <i>PODOCARPOPHYLLUM</i> GOMOLITZKY (<i>CONIFERALES</i>)	211
<i>Озеров И.А., Жинкина Н.А., Мачс Э. М., Украинцева В.В., Родионов А.В.</i> РЕАКЦИЯ ФЁЛЬГЕНА КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП ИССЛЕДОВАНИЯ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУР В ТКАНЯХ ИСКОПАЕМЫХ РАСТЕНИЙ	213
<i>Попова С.С.</i> АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СОВРЕМЕННЫХ И ИСКОПАЕМЫХ <i>VITACEAE</i>	214
<i>Тропина П.Д.</i> О СЕМЕНАХ <i>Lysimachia</i> и <i>Naumburgia</i> (<i>Primulaceae</i>) ИЗ ТРЕТИЧНЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РОССИИ (РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ)	215
<i>Чухина И.Г., Шилов М.В.</i> РАЗНООБРАЗИЕ ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ОКРЕСТНОСТЯХ СРЕДНЕВЕКОВОЙ ЛАДОГИ (ПО КАРПОЛОГИЧЕСКИМ НАХОДКАМ)	218

СЕКЦИЯ КУЛЬТУРНЫЕ И СОРНЫЕ РАСТЕНИЯ

<i>Абдуллатипов Р.А.</i> ИНТРОДУКЦИОННЫЙ АНАЛИЗ КОЛОННОВИДНЫХ СОРТОВ ЯБЛОНИ В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО ДАГЕСТАНА	223
<i>Ахматова З.П., Карданов А.Р.</i> АБРИКОС – ПЕРСПЕКТИВНАЯ ПЛОДОВАЯ КУЛЬТУРА В ГОРНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА	225
<i>Белова Т.А.</i> РОЛЬ БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ИЗМЕНЕНИИ КОНКУРЕНТНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ВНУТРИ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ НА ПРИМЕРЕ МОНОКУЛЬТУРЫ <i>GLYCINE MAX</i> (L.) MERR.	228
<i>Вержук В.Г., Бурмистров Л.А., Мурашев С.В., Белова А.Ю.</i> РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ И ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ	230
<i>Газиев М. А., Асадулаев З. М.</i> НОВЫЙ МЕТОД ИНТРОДУКЦИОННОГО ИЗУЧЕНИЯ СОРТОВ ЯБЛОНИ И ГРУШИ	232
<i>Дзюбенко Н.И., Смекалова Т.Н., Чухина И.Г., Дзюбенко Е.А., Малышев Л.Л.</i> СОЗДАНИЕ АРЕАЛОВ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ В ЭЛЕКТРОННОМ АТЛАСЕ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ РАСТЕНИЙ И ВРЕДНЫХ ОБЪЕКТОВ РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВ	234
<i>Дибиров М.Д., Анатов Д.М.</i> ИТОГИ ИНТРОДУКЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ СОРТОВ ТРИТИКАЛЕ ВДОЛЬ МЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЙ ВЫСОТНОГО ГРАДИЕНТА	236
<i>Жуманиязов А., Раззаков К.</i> МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИНТРОДУЦИРУЕМЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА В УСЛОВИЯХ ХОРЕЗМСКОГО ОАЗИСА	238
<i>Жуманиязова М.П., Сафарова Н.К., Аннамуратова Д.Р.</i> РОСТ, РАЗВИТИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ НЕТРАДИЦИОННЫХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В УЗБЕКИСТАНЕ	240
<i>Киру С.Д.</i> ВНУТРИВИДОВОЙ ПОЛИМОРФИЗМ КУЛЬТУРНОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ <i>SOLANUM ANDIGENUM</i> JUZ. ET VUK. ПО ФЕНОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ	243
<i>Крылова Е.А., Овчинникова А.Б., Смекалова Т.Н., Гавриленко Т.А., Новикова Л.Ю.</i> АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ОБРАЗЦОВ КУЛЬТУРНЫХ И БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВНИИР ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА	245
<i>Немова Е.М.</i> НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИСТОРИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ РОДОВ <i>LAUROCERASUS</i> MILL. И <i>PADUS</i> MILL. ПОДСЕМЕЙСТВА <i>PRUNOIDEAE</i> ФОСКЕ	247
<i>Смекалова Т. Н.</i> СИСТЕМАТИКА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМАМИ СОХРАНЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ	250
<i>Тихонова О.А., Смекалова Т.Н.</i> ДИКОРАСТУЩИЕ ВИДЫ СМОРОДИНЫ В ЭЛЕКТРОННОМ АТЛАСЕ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ РАСТЕНИЙ И ВРЕДНЫХ ОБЪЕКТОВ РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВ	253

Турсумбекова Г. Ш. СЕГЕТАЛЬНАЯ ФЛОРА АГРОФИТОЦЕНОЗОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР И ЕЕ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО ЗАУРАЛЬЯ И КАЗАХСТАНА	256
Шитилина Л.Ю. ДИКОРАСТУЩИЕ РОДИЧИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ ВО ФЛОРЕ ЮЖНОЙ ТАЙГИ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ	258

СЕКЦИЯ БОТАНИЧЕСКОЕ РЕСУРСОВЕДЕНИЕ И ФАРМАКОГНОЗИЯ

Анциупова Т.П., Павлова Е.П. СЫРЬЕВЫЕ РЕСУРСЫ ШИПОВНИКА НА ТЕРРИТОРИИ БУРЯТИИ	263
Бадритдинов Р.А. НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА <i>FESTUCA ARUNDINACEA</i> (РОАСЕАЕ), ВЫРАЩИВАЕМОЙ В НОВОСИБИРСКЕ	263
Борисова Н.И. РЕСУРСНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ БРУСНИКИ В ЛЕСАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ	266
Бутина Н.А. ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ЗАПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ У <i>ULMUS PUMILA</i> L. И <i>U. MACROCARPA HANCE</i>	268
Ветчинникова Л.В., Кузнецова Т.Ю. КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА: СОСТОЯНИЕ РЕСУРСОВ И ИХ ОХРАНА	270
Гилева М.В. СЫРЬЕВАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОСОБЕЙ <i>PHLOJODICARPUS SIBIRICUS</i> (СТЕРН. EX SPRENG.) К.-POL. (СЕМ. <i>APIACEAE</i>) В ВОСТОЧНОМ ЗАБАЙКАЛЬЕ	273
Гравель И.В., Яковлев Г.П. ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ В СЫРЬЕ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ	275
Егошина Т.Л. ОСОБЕННОСТИ ПЛОДОНОШЕНИЯ И РЕСУРСЫ <i>SORBUS AUCUPARIA</i> В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ	277
Зизн Т.Т. Нго, Жохова Е.В., Буданцев А.Л. ИЗУЧЕНИЕ ТЕРПЕНОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ПУСТЫРНИКА ЯПОНСКОГО	280
Илюшечкина Н.В. БИОЛОГИЯ И СТРУКТУРА ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ <i>VERONICA LONGIFOLIA</i> L.	283
Исаева Л.Г. УРОЖАЙНОСТЬ <i>EMPETRUM HERMAPHRODITUM</i> HAGER. В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ	286
Кулакова Ю.Ю., Зайко Л.Н. МОНИТОРИНГ РЕСУРСОВ ВИДОВ Р. <i>THYMUS</i> НА ТЕРРИТОРИИ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ	288
Костина Л.И. ПРОИСХОЖДЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L. SUBSP. <i>CHILOENSE</i> (A.DC.) KOSTINA (АБОРИНЕННЫЕ СОРТА ЧИЛИ)	291
Куркин В.А., Правдивцева О.Е. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ <i>HYPERICUM</i> L.	292
Нечаев А.А., Тагильцев Ю.Г., Колесникова Р.Д. ПИЩЕВЫЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ РЕСУРСЫ РОССИЙСКОГО ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ОСВОЕНИЕ	294
Никитина Е.В., Стрельцина С.А., Конарев А.В., Дзюбенко Н.И. СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ У ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (<i>MEDICAGO SATIVA</i> L.)	297
Ткаченко К.Т., Ткачев А.В. О КОМПОНЕНТНОМ СОСТАВЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ <i>DRACOCERHALUM MULTICOLOR</i> , <i>MYRICA TOMENTOSA</i> И <i>PANZERINA LANATA</i>	300
Токарев П.Н., Антипин В.К. ГЕОИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БОТАНИЧЕСКОМ РЕСУРСОВЕДЕНИИ КАРЕЛИИ	301
Тухватуллина Л.А. БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ДИКОРАСТУЩИХ ЛУКОВ БАШКОРТОСТАНА В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ	304
Шарыгина Ю.М. ПРИМЕНЕНИЕ БИОГУМУСА В ПЛАНТАЦИОННОЙ КУЛЬТУРЕ <i>RHODIOLA ROSEA</i> L. В СРЕДНЕМ ПОВОЛЖЬЕ	306
Шеленга Т.В., Леонова С.В., Конарев А.В., Лоскутов И.Г., Карлосон А., Стим С. СОДЕРЖАНИЕ МАСЛА В ОБРАЗЦАХ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ ОВСА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА И ЕГО КАЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА	308

ОХРАНА РАСТИТЕЛЬНОГО МИРА

Абрамова Т.И. ОБНАЖЕНИЯ МЕЛА – ОСОБО ОХРАНЯЕМЫЕ ПРИРОДНЫЕ ТЕРРИТОРИИ СТЕПНОЙ ЧАСТИ НИЖНЕГО ДОНА (РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)	313
Агеева А.М., Силаева Т.Б. СТЕПНАЯ ФЛОРА И РАСТИТЕЛЬНОСТЬ ДОЛИНЫ РЕКИ ПАРЦА	315
Багмет Л.В., Смекалова Т.Н. МОБИЛИЗАЦИЯ ДИКОРАСТУЩИХ РОДИЧЕЙ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ РОССИЙСКОГО КАВКАЗА В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ ИХ СОХРАНЕНИЯ	316

<i>Беллолюбская С.Б., Данилова Н.С.</i> ОПЫТ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ ВИДОВ В ОКРЕСТНОСТЯХ Г. ЯКУТСКА	318
<i>Беркутенко А.Н.</i> РЕДКИЕ РАСТЕНИЯ СЕВЕРО-ВОСТОКА АЗИИ: ВЗГЛЯД ЧЕРЕЗ 20 ЛЕТ	321
<i>Боронникова С.В.</i> УРОВЕНЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ	323
<i>Быченко Т.М.</i> СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ОРХИДНЫХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ СИБИРИ	326
<i>Ван В.М.</i> ОХРАНА РЕДКИХ ВИДОВ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ В КОМСОМОЛЬСКОМ ЗАПОВЕДНИКЕ ..	329
<i>Владыкина Н.С., Казакова М.В.</i> К ИЗУЧЕНИЮ БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ЭКОЛОГО-ЦЕНОТИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ УЯЗВИМОСТИ ВИДОВ КРАСНОЙ КНИГИ РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ	331
<i>Гафурова М.М.</i> К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ, ПОДЛЕЖАЩИХ ОХРАНЕ, НА ОСНОВЕ ХАРАКТЕРИСТИК ФЛОРЫ И РАСТИТЕЛЬНОСТИ	334
<i>Глазунов В.А.</i> НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В ЛЕСНОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	336
<i>Горбунов Ю.Н.</i> БОТАНИЧЕСКИЕ САДЫ РОССИИ И РЕИНТРОДУКЦИЯ РЕДКИХ РАСТЕНИЙ	338
<i>Гусев А.В.</i> ОХРАНЯЕМЫЕ ВИДЫ ВО ФЛОРЕ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	341
<i>Игошева Н.И.</i> СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ ОРХИДНЫХ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ	344
<i>Казакова М.В.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОХРАНЯЕМОГО КОМПОНЕНТА РЕГИОНАЛЬНЫХ ФЛОР (НА ПРИМЕРЕ 10 ОБЛАСТЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ)	437
<i>Клинкова Г.Ю., Луконина А.В.</i> РАСПРОСТРАНЕНИЕ И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ ЦИНГЕРИИ БИБЕРШТЕЙНА (<i>ZINGERIA VIEBERSTEINIANA</i> (CLAUS) P. SMIRN.) В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ	349
<i>Конева Н.В., Сенатор С.А., Саксонов С.В.</i> РАРИТЕТНАЯ ФРАКЦИЯ САМАРСКОЙ ФЛОРЫ	352
<i>Конечная Г.Ю.</i> РОЛЬ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «СЕБЕЖСКИЙ» В СОХРАНЕНИИ ФЛОРЫ ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ	354
<i>Коркишко Р.И., Кожевникова З.В., Кожевников А.Е.</i> ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ЮГО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ	356
<i>Крайнюк Е.С.</i> КЛЮЧЕВЫЕ БОТАНИЧЕСКИЕ ТЕРРИТОРИИ КРЫМА	359
<i>Краснопевцева А.С., Мартусова Е.Г., Краснопевцева В.М.</i> ТУНКИНСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПАРК – УНИКАЛЬНАЯ БОТАНИЧЕСКАЯ ТЕРРИТОРИЯ	361
<i>Крейле В.Л.</i> МЕРОПРИЯТИЯ ПО ОХРАНЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ СУХИХ СУБКОНТИНЕНТАЛЬНЫХ ЛЕСОВ ЛАТВИИ	362
<i>Мельникова А.Б.</i> К ВОПРОСУ ОХРАНЫ РЕДКИХ ВИДОВ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ БОЛЬШЕХЕХЦИРСКОГО ЗАПОВЕДНИКА (ХАБАРОВСКИЙ КРАЙ)	365
<i>Немчинова А.В.</i> ЛЕСА ВЫСОКОЙ ПРИРОДООХРАННОЙ ЦЕННОСТИ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ	368
<i>Нестеренко М.А., Колдаева М.Н.</i> РЕДКИЕ ВИДЫ РОДА <i>ACONITUM</i> L. В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ ФЛОРЕ	371
<i>Пересторонина О.Н., Савиных Н.П.</i> НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ОХРАНЫ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ ФЛОРЫ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ	374
<i>Плотникова И.А.</i> ОРХИДНЫЕ ПЕЧОРО-ИЛЫЧСКОГО ЗАПОВЕДНИКА: РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ЧИСЛЕННОСТЬ И СТРУКТУРА ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ (КОРНЕВИЩНЫЕ ВИДЫ)	376
<i>Подгаевская Е.Н.</i> СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ <i>DIANTHUS ACICULARIS</i> FISCH. EX LEDEB. И <i>OXYTROPIS PONOMAREVII</i> KNJASEV В ГОРНЫХ СТЕПЯХ УРАЛА	378
<i>Попова О.А.</i> РЕДКИЕ РАННЕЦВЕТУЩИЕ РАСТЕНИЯ ВОСТОЧНОГО ЗАБАЙКАЛЯ	380
<i>Рубцова Т.А., Зайцева Н.В.</i> МОНИТОРИНГ РЕДКИХ ВИДОВ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ В ЕВРЕЙСКОЙ АВТОНОМНОЙ ОБЛАСТИ	383
<i>Савельева Л.И.</i> ДИНАМИКА РАЗНООБРАЗИЯ ЛЕСНОГО ПОКРОВА ВО ВРЕМЕНИ И ПРОБЛЕМЫ ЕГО СОХРАНЕНИЯ	385
<i>Саутин Е.А.</i> <i>AEGORODIUM LATIFOLIUM</i> TURCZ. – ЭНДЕМ, РЕЛИКТ ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ ЮЖНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ОЗЕРА БАЙКАЛ	386
<i>Тарасова Е.М.</i> РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТЬ ФЛОРЫ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ	388
<i>Туганав В.В., Бухарина И.Л.</i> ГЛОБАЛЬНОЕ ПОТЕПЛЕНИЕ КЛИМАТА И СТРАТЕГИЯ СОХРАНЕНИЯ ФИТОРАЗНООБРАЗИЯ	391

<i>Фадеева И.А.</i> МЕСТОПОЛОЖЕНИЕ, СОСТОЯНИЕ И ОХРАНА ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ВОСТОЧНОЙ ГРАНИЦЕ АРЕАЛА, ЛИБО ЗА ЕЁ ПРЕДЕЛАМИ	393
<i>Федяева В.В., Шишлова Ж.Н., Шмараева А.Н.</i> ПОПУЛЯЦИИ ОХРАНЯЕМЫХ ОБЛИГАТНЫХ МЕЛОВИКОВ НА СРЕДНЕМ ДОНУ (РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)	395
<i>Филимонова Т.В.</i> ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ОХРАНА АБОРИГЕННЫХ ВИДОВ РОДА <i>ALSCHEMILLA</i> L. В МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ	398
<i>Чистякова А.А.</i> ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ПРИНЦИПЫ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ ЛЕСОСТЕПИ	401
<i>Шадрин В.А.</i> ВОДОРАЗДЕЛЫ, БИОРАЗНООБРАЗИЕ, РЕЗЕРВАТЫ	402
<i>Шереметова С.А., Буко Т.Е.</i> РЕДКИЕ И ИСЧЕЗАЮЩИЕ РАСТЕНИЯ ГОРНОЙ ШОРИИ	405
<i>Юрицына Н.А.</i> О НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И НУЖДАЮЩИХСЯ В ОХРАНЕ ВИДАХ РАСТЕНИЙ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ	407

Научное издание

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ПРОБЛЕМЫ БОТАНИКИ
В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**

Материалы всероссийской конференции

ЧАСТЬ 3

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМАТИКА И БИОСИСТЕМАТИКА
ФЛОРА И СИСТЕМАТИКА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ
ПАЛЕОБОТАНИКА
КУЛЬТУРНЫЕ И СОРНЫЕ РАСТЕНИЯ
БОТАНИЧЕСКОЕ РЕСУРСОВЕДЕНИЕ И ФАРМАКОГНОЗИЯ
ОХРАНА РАСТИТЕЛЬНОГО МИРА

Ответственные за выпуск:

Крышень А.М.

Сысоева М.И.

Тимофеева В.В.

Фото И. Георгиевского

Рисунок на обложке *Т. Анненкова*

Сдано в печать 00.00.08 г. Формат 60x84¹/₈. Гарнитура Times New Roman.

Печать офсетная. Уч.-изд. л. 48,7. Усл. печ. л. 49,0. Тираж 400 экз.

Изд. № 107. Заказ № 738.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50