

БОТАНИКА, МИКОЛОГИЯ, ЗООЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 575.17:582.52

К. С. Добрякова, Н. Н. Носов

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ITS1-ГЕНОВ 5.8S рРНК-ITS2 И *trnL-trnF* В ХОДЕ ДИВЕРГЕНЦИИ ВИДОВ РОДА *ELYMUS* L. ФЛОРЫ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА*

Филогения видов *Elymus* была проанализирована с помощью молекулярно-филогенетических методов. Сравнительный анализ последовательностей ITS1-генов 5.8S рРНК-ITS2 видов *Elymus* и группы родства выявил 3 гаплотипа видов *Elymus*. Гаплотипы группы А найдены у видов *Elymus* секций *Turczaninovia*, *Goulardia* и *Elymus* и вида *Elytrigia geniculata*; гаплотипы группы В характерны для видов *Elymus* секций *Goulardia* и *Turczaninovia*; гаплотипы группы С — для видов секций *Goulardia* и *Clinelymopsis* и вида *E. repens*. Сравнительный анализ последовательностей *trnL-trnF* видов *Elymus* и родственных видов показал, что виды данного рода образуют одну высоко поддерживаемую кладу. Библиогр. 22 назв. Ил. 2. Табл. 3.

Ключевые слова: *Elymus*, молекулярная филогения, гибридизация.

K. S. Dobryakova, N. N. Nosov

ITS1-GENE 5.8S rRNA-ITS2 AND *trnL-trnF* SEQUENCE VARIABILITY DURING THE DIVERGENCE OF *ELYMUS* L. SPECIES OF THE FLORA OF SIBERIA AND RUSSIAN FAR EAST

V.L. Komarov Botanical Institute of the RAS, 2, ul. Professora Popova, St. Petersburg, 197376, Russian Federation; kdobryakova@mail.ru, nnosov@mail.ru

The phylogenetic relationship of *Elymus* species were analyzed by molecular phylogenetic methods. Comparative analysis of the sequences ITS1-5.8S rRNA gene-ITS2 of the nuclear genome species of genus *Elymus* and kinship group showed that the species of the genus *Elymus* have 3 haplotypes. Haplotype A was found in *Elymus* species (sections: *Turczaninovia*, *Goulardia* и *Elymus*) and *Elytrigia geniculata*; haplotype B was found in *Elymus* species (sections: *Turczaninovia*, *Goulardia*); haplotype C (sections: *Goulardia* и *Clinelymopsis*) and *E. repens*. Comparative analysis of the sequences *trnL-trnF* of the chloroplast genome of genus *Elymus* related species showed that the species of the genus *Elymus* form strongly supported clade. The phylogenetic trees were constructed using Bayesian method. Refs 22. Figs 2. Tables 3.

Keywords: *Elymus*, molecular phylogeny, hybridization.

Введение

Род *Elymus* s.l. состоит из полиплоидных видов многолетних трав трибы *Triticeae* Dum. семейства *Poaceae* Varnh. По современным представлениям род включает в себя около 150 видов, родственные отношения между которыми остаются предметом дискуссий [1, 2]. В России 34 вида рода *Elymus* произрастают в Сибири

К. С. Добрякова (kdobryakova@mail.ru), Н. Н. Носов (nnosov@mail.ru): Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2.

* Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 12-04-31524 мол_а, 14-04-01416, 15-04-06438.

и на Дальнем Востоке [1]. Объем и границы ареала рода *Elymus* s.l. неоднократно пересматривались [1, 3]. Некоторые виды рода *Elymus* (например, *E. sibiricus* L., *E. trachycaulus* Tzvel.) являются кормовыми и пастбищными злаками, а также потенциальными донорами признаков для улучшения хлебных злаков из трибы Triticeae (пшеница, рожь, ячмень). Все виды *Elymus* являются аллополиплоидами, т. е. возникли в результате объединения различных наборов хромосом. Геном рода *Elymus* в различных сочетаниях представлен следующими субгенами: St, H, P, W и Y. Предполагаемыми донорами субгеномов являются соответственно: *Pseudoroegneria* (*Elytrigia*), *Hordeum*, *Agropyron*, *Australopyrum* и неизвестный донор [2, 4]. Субгеном St входит в состав генома всех представителей родов *Elymus*, а также *Elytrigia*. Согласно данным по трем малокопийным ядерным генам [4], а также по ITS и *trnL-trnF* последовательностям [5], разделение последовательностей *Elymus* на клады на филогенетическом дереве происходит в соответствии с субгенами, к которым относятся данные последовательности.

Отметим, что наши исследования Пырейников находятся в русле мировых, исследования других агроэкологов касаются западных — американских и европейских — видов, и лишь небольшого количества азиатских — сибирских и дальневосточных видов. Филогенетическая картина родов и триб будет неполной без восточноазиатских представителей. Полученные данные могут быть использованы для выяснения молекулярно-филогенетических отношений внутри рода *Elymus* s.l. флоры России, а также между другими родами трибы Пшеницевые.

В настоящее время для исследований филогении покрытосеменных и других растений широко используются последовательности ядерной и хлоропластной ДНК, особенно интроны *trnL* и *trnL-trnF* [5]. ITS-последовательности — это популярный маркер при проведении молекулярно-филогенетических исследований растений [4, 7]. В большинстве исследований филогении растений используются маркеры только одного типа, обычно последовательности ITS или пластидные последовательности, в то время как одновременное использование нескольких маркеров отражает современную тенденцию [6].

Цель нашей работы состояла в выяснении родственных связей между видами *Elymus* L. sensu lato флоры России с применением молекулярно-филогенетических методов.

Материал и методы

В работу были включены 38 последовательностей ITS видов *Elymus* и 5 последовательностей ITS других родов трибы Triticeae (*Elyhordeum*, *Elytrigia*, *Psathyrostachys* и *Agropyron*), полученные нами (табл. 1), а также ряд ITS-последовательностей, которые были депонированы из базы данных GenBank (табл. 3).

Мы секвенировали 16 последовательностей *trnL-trnF* видов *Elymus* и 2 последовательности *trnL-trnF* представителей рода *Agropyron* (табл. 2), 13 последовательностей *trnL-trnF* также были взяты из GenBank (табл. 3).

Для проведения молекулярно-филогенетического исследования мы также депонировали ITS-последовательности ядерного генома (рис. 1) и *trnL-trnF* последовательности генома хлоропластов из базы данных GenBank (рис. 2). Образцы растений были собраны в Алтайском крае и республике Алтай, Хакасии, Кемеровской области, Якутии, на Кавказе в 2004–2013 гг. Гербарные образцы хранятся в гербарии

Таблица 1. Секвенированные и проанализированные последовательности ITS1-генов 5.8S рРНК-ITS2

Номер в GenBank	Вид	Местонахождение ваучера, место и дата сбора и информация об определении образца
KM871828	<i>E. amurensis</i> (Drob.) Czer.	Л.Е. Ворошиловский р-н, 18.07.1952. Собр.: С. К. Черепанов. Опр.: Н. Н. Цвелев. — наши данные.
KJ561233	<i>E. caninus</i> (L.) L.	РА. Чарышский р-н., 51°12' с.ш., 83°51' в.д., 25.08.2007. Собр.: А.В. Родионов (АР), Е. О. Пунина (ЕП), Н.Н. Носов (НН). Опр.: Н.Н. Носов (НН), Н.Н. Цвелев (НЦ). Alt 1031.
KJ561234	<i>E. caninus</i> (L.) L.	Сев. Кавказ, сев. склон г. Оштен. Собр.: АР, ЕП. Опр.: НН, НЦ К 26.
KM871829	<i>E. ciliaris</i> (Trin.) Tzvel.	Л.Е. Приморский кр., пос. Шкотова, 29.09.1984. Собр., опр.: НЦ
KJ540222	<i>E. dahuricus</i> Turcz. ex Griseb.	Респ. Хакасия, Орджоникидзеvский р-н, 54°47' с.ш., 89°45' в.д. 22.08.2009. Собр.: АР, НН. Опр.: К. С. Добрякова (КД), НЦ, Ха 09–157.
KJ540223	<i>E. dahuricus</i> Turcz. ex Griseb.	Респ. Алтай (РА), Онгудайский р-н. 50°59' с.ш., 88°44' в.д. 13.08.2011. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 11–39.
KM363383	<i>E. fibrosus</i> (Schrenk) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н, 07.09.2008. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ Alt 1491.
KM871830	<i>E. fibrosus</i> (Schrenk) Tzvel.	Л.Е. Ex herbario universitatis ouluensis. Finland. 29.07.1978. Leg.: Т. Ulvinen, А. Ylimartimo & Co.
KJ540225	<i>E. gmelinii</i> (Ledeb.) Tzvel.	Алтайский край, на границе Змеиногорского и Курьинского р-нов, 51°10' с.ш., 82°49' в.д., 22.08.2007. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ Alt 971.
KM363382	<i>E. gmelinii</i> (Ledeb.) Tzvel.	РА, Улаганский р-н, 50°35' с.ш., 88°02' в.д., 23.08.2012. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД. Alt 12–193.
KM363384	<i>E. gmelinii</i> (Ledeb.) Tzvel.	Кемеровская обл., Тисульский р-н, 55°46' с.ш., 88°22' в.д., 24.08.2009. Собр.: АР. Опр.: КД, НЦ. Ке 09–15.
KM871831	<i>E. hyperarcticus</i> (Polun.) Tzvel.	Л.Е. Западная Чукотка, 07.08.1976. Собр., опр.: В. В. Петровский, Т. М. Королева.
KM363381	<i>E. jacutensis</i> (Drob.) Tzvel.	Якутия, Булунский р-н. 24.07.2007. Собр., опр.: Е. Г. Николин. JaK 5.
KM575844	<i>E. jacutensis</i> (Drob.) Tzvel.	РА, Шебалинский р-н, 51°07' с.ш., 85°36' в.д., 11.08.2006. Собр.: АР, ЕП. Опр.: НН. Alt 239.
KM871826	<i>E. karakabinicus</i> Kotuch.	РА. Улаганский р-н. 21.08.2012. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД. Alt 12–137.
KJ561236	<i>E. komarovii</i> (Nevski) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н. 49°46' с.ш., 89°28' в.д., 16.08.2011. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НН. Alt 11–101.
KJ561237	<i>E. kronokensis</i> (Kom.) Tzvel.	РА. Онгудайский р-н, 50°39' с.ш., 86°19' 31.08.2006. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ Alt 660.
KM502299	<i>E. macrourus</i> (Turcz.) Tzvel.	Якутия, Кобяйский р-н., 10.07.1986. Собр.: Е. Г. Николин. Опр.: Г. А. Пешкова. JaK38.
KM871827	<i>E. mutabilis</i> (Drob.) Tzvel.	РА, Усть-Коксинский р-н, 50°17' с.ш., 85°22' в.д., 26.07.13. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: ЕП, КД.
KJ540224	<i>E. nevskii</i> Tzvel.	Алтайский край, Чарышский р-н, 51°02' с.ш., 83°39' в.д. 29.08.2007. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ. Alt 1124.
KM871821	<i>E. pendulinus</i> (Nevski) Tzvel.	РА, Онгудайский р-н. 50°21' с.ш., 87°03' в.д., 30.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД. Alt 10–629.

Номер в GenBank	Вид	Местонахождение ваучера, место и дата сбора и информация об определении образца
KM871824	<i>E. peschkovae</i> Tzvel.	ЛЕ. Якутия, Сусуманский р-н, около пос. Тангора, 03.07.1957. Собр.: П. П. Реутт. Опр.: НЦ.
KM502300	<i>E. sajanensis</i> (Nevski) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н, 50°04' с.ш., 87°46' в.д., 20.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: ЕП. Alt 10–131.
KM871825	<i>E. sajanensis</i> (Nevski) Tzvel.	Респ. Тыва, берег р. Моген-Бурен, 50°10' с.ш., 89°45' в.д., 2200 м над ур. м. Собр.: АР. Опр.: НН, НЦ. Тува 49.
KP325389	<i>E. scandicus</i> (Nevski) Tzvel.	ЛЕ. Чукотский АО, Анадырский район, 7.08.1978. Собр., опр.: О. М. Афонина, А. А. Коробков, Н. А. Секретарева, Б. А. Юрцева.
KM502297	<i>E. schrenkianus</i> (Fisch. et C. A. Mey.) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н, 49°18' с.ш., 87°45' в.д., 22.08.2006. Собр.: АР, ЕП.
KM502301	<i>E. schrenkianus</i> (Fisch. et C. A. Mey.) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н, 49°84' с.ш., 89°21' в.д., 20.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД. Alt 11–653.
KJ540220	<i>E. sibiricus</i> L.	РА, Кош-Агачский р-н, 50°02' с.ш., 88°16' в.д., 25.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 10–409
KM975705	<i>E. subfibrosus</i> (Tzvel.) Tzvel.	ЛЕ. Якутия, 200 км южнее от г. Якутска, 03.07.1969. Собр.: Т. Г. Леонова. Опр.: Т. Г. Леонова, НЦ.
KM975706	<i>E. trachycaulus</i> (Link) Gould et Shinnars	ЛЕ. Приморский кр., Шкотовский р-н, 12.07.1973. Собр., опр.: Н. С. Пробатова.
KM575845	<i>E. transbaicalensis</i> (Nevski) Tzvel.	РА, Кош-Агачский р-н, 50°09' с.ш., 88°18' в.д., 29.08.2006. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ. Alt 544.
KM363385	<i>E. transbaicalensis</i> (Nevski) Tzvel.	РА. Улаганский р-н, 50°19' с.ш., 87°43' в.д. 30.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 10–545.
KJ561235	<i>E. transbaicalensis</i> (Nevski) Tzvel.	РА. Кош-Агачский р-н. 49°46' с.ш., 89°28' в.д. 16.08.2011. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 11–109.
KM379150	<i>E. turuchanensis</i> (Reverd.) Czer.	РА, Усть-Коксинский р-н, пер. Ажу. 27.08.2012. Собр.: АР, ЕП. Опр.: КД. Alt 12–374.
KJ540221	<i>E. vernicosus</i> (Nevski ex Grub.) Tzvel	РА, Улаганский р-н. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 12–142.
KM871833	<i>E. uralensis</i> (Nevski) Tzvel.	Ямало-Ненецкий АО, Полярный Урал. Собр.: Э. М. Мачс (ЭМ). Опр.: КД. P2.
KJ561238	<i>Elymus ircutensis</i> × <i>Agropyron</i> × <i>Elytrigia</i>	РА. Кош-Агачский р-н, Курайская степь, 50°15' с.ш., 87°53' в.д. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 10–278.
KJ561239	<i>Elymus</i> sp.x	РА. Чемальский р-н. 51°38' с.ш., 85°46' в.д., 386 м над ур. м. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 11–60.
KJ561241	<i>Agropyron cristatum</i> (L.) Beauv.	РА. Кош-Агачский р-н, 49°48' с.ш., 89°22' в.д., 20.08.2011. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 11–377.
KJ561240	<i>A. krylovianum</i> Schischk.	РА. Улаганский р-н. 50°54' с.ш., 88°12' в.д., 23.08.2012. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 12–264.
KJ755830	× <i>Elyhordeum schmidii</i> (Melderis) Melderis	РА. Шебалинский р-н. Чуйский тракт, окр. пос. Черга, берег р. Сема. 51°35' с.ш., 85°35' в.д., 450 м над ур. м. 28.08.2004. Собр.: АР, ЕП, С. А. Дьяченко. Опр.: НЦ. Alt 053
KJ561242	<i>Elytrigia geniculata</i> (Trin.) Nevski	Респ. Хакасия, Орджоникидзеvский р-н, 54°41' с.ш., 89°42' в.д., 23.08.2009. Собр.: АР, НН. Опр.: КД, НЦ. Ха 09–180.
KJ561243	<i>Psathyrostachys desertorum</i> (Fisch.) Nevski (<i>P. juncea</i>)	РА. Кош-Агачский р-н, 50°09' с.ш., 88°18' в.д., 21.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: ЕП, НЦ. Alt 10–261.

Таблица 2. Секвенированные и проанализированные последовательности *trnL-trnF*

Номер в GenBank	Вид	Местонахождение ваучера, место и дата сбора и информация об определении образца
KJ744041	<i>E. caninus</i> (L.) L.	РА. Чарышский р-н., 51°12' с.ш., 83°51' в.д., 25.08.2007. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ. Alt 1031.
KP325390	<i>E. charkeviczii</i> Prob.	ЛЕ. Чукотский НО, 30.07.1970. Собр.: Е. В. Дорогостайская. Опр.: НЦ.
KJ744040	<i>E. dahuricus</i> Turcz. ex Griseb.	Респ. Хакасия, Орджоникидзевский р-н, 54°47' с.ш., 89°45' в.д. 22.08.2009. Собр.: АР, НН. Опр.: НН, НЦ. Ха 09–157.
KP325398	<i>E. exselsus</i> Griseb.	ЛЕ. Читинская область. Кыринский район, 49°24' с.ш., 111°59' в.д., № 265. Собр., опр.: Е. О. Головина.
KP325395	<i>E. exselsus</i> Griseb.	ЛЕ. Зап. Саяны, устье р. Ус, 20.08.1932. Собр.: Г. А. Балабаева. Опр.: НЦ.
KJ755833	<i>E. fedtschenkoi</i> Tzvel.	РА. Улаганский р-н, 21.08.2012. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД. Alt 12–133.
KP325396	<i>E. franchetii</i> Kitag.	ЛЕ. Окр. г. Никольск, 08.08.1931. Собр.: И. К. Шишкин. Опр.: НЦ.
KP325393	<i>E. ircutensis</i> Peschkova	РА. Кош-Агачский р-н, 21.08.2010. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: ЕП, НЦ.
KJ744043	<i>E. nevskii</i> Tzvel.	Алтайский край, Чарышский р-н, 51°02' с.ш., 83°39' в.д. 29.08.2007. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: НН, НЦ. Alt 1124.
KP325397	<i>E. pendulinus</i> (Nevski) Tzvel.	ЛЕ. Дальневосточная чайная экспедиция 1952 г. Шкотовский район. 28.07.1952. Собр.: В. Н. Васильев, М. В. Горелкина. Опр.: НЦ.
KP325400	<i>E. peschkovae</i> Tzvel.	ЛЕ. Якутия, Сусуманский р-н, 03.07.1957. Собр.: П. П. Реутт. Опр.: НЦ.
KP325391	<i>E. peschkovae</i> Tzvel.	ЛЕ. Амурская обл., 02.07.1956. Собр.: В. Б. Сочава, В. В. Липатова. Опр.: НЦ.
KP325394	<i>E. probatovae</i> Tzvel.	ЛЕ. Камчатка, с. Еловка, 13.04.1929. Собр.: П. Т. Новограбленов. Опр.: НЦ.
KP325399	<i>E. scandicus</i> (Nevski) Khokhr.	ЛЕ. Чукотский АО, Анадырский район, 07.08.1978. Собр., опр.: О. М. Афонина, А. А. Коробков, Н. А. Секретарева, Б. А. Юрцева.
KP257587	<i>E. subfibrosus</i> (Tzvel.) Tzvel.	ЛЕ. Якутия, 200 км южнее от г. Якутска, 03.07.1969. Собр.: Т. Г. Леонова. Опр.: Т. Г. Леонова, НЦ.
KP325392	<i>E. vassiljevii</i> Czerep.	ЛЕ. Восточная Чукотка, трасса Эгвекинот-Иульгин, 62 км, 16.07.1973.
KJ744042	<i>Agropyron cristatum</i> (L.) Beauv.	РА. Кош-Агачский р-н, 49°48' с.ш., 89°22' в.д., Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 11–377.
KJ755832	<i>A. krylovianum</i> Schischk.	РА. Улаганский р-н. 50°54' с.ш., 88°12' в.д., 23.08.2012. Собр.: АР, ЕП, НН. Опр.: КД, НЦ. Alt 12–264.

лаборатории Биосистематики и цитологии БИН РАН. Растительный материал для исследования был также взят из гербарных коллекций БИН РАН (ЛЕ). ДНК из листового материала выделена СТАВ-методом [15]. ПЦР была проведена на амплификаторе “Techne TC412” (BarloworldScientific, Великобритания). Амплификация района ITS проведена с использованием праймеров ITS 1P [16] и ITS 4 [17]. Параметры циклов амплификации следующие: 1 цикл — 5 мин, 95°C; 30 циклов — 1 мин, 94°C; 1 мин, 52°C; 1 мин, 72°C; 1 цикл — 10 мин, 72°C и цикл — 3 мин, 94°C; 34 цикла — 30 с, 94°C; 30 с, 54°C; 50 с, 72°C. Для амплификации последовательности *trnL-trnF*

Таблица 3. Последовательности ITS1-генов 5.8S рРНК-ITS2 и *trnL-trnF* международной базы данных GenBank, используемые в нашей работе

Номер в GenBank		Вид	Происхождение образца	Авторы
<i>trnL-trnF</i>	ITS1-5.8S рДНК-ITS2			
KF600688		<i>E. caninus</i> (L.) L.	USA	Mason-Gamer [4]
	AY740808	<i>E. caucasicus</i> (K. Koch) Tzvelev	China	Liu с соавторами [5]
DQ159289		<i>E. caucasicus</i> (K. Koch) Tzvelev		Mason-Gamer, неопубл.
	FJ040160	<i>E. confusus</i> (Roshev.) Tzvelev	China	Wang X., Zhou Y., неопубл.
AB732930		<i>E. dahuricus</i> Turcz. ex Griseb.	Japan	Matsushima с соавторами [8]
	KF905146	<i>E. dahuricus</i> var. <i>cylindricus</i> Franch.	China	Song, Nan, неопубл.
KF905222		<i>E. dahuricus</i> var. <i>cylindricus</i> Franch.	China	Song, Nan, неопубл.
KF905219		<i>E. dahuricus</i> var. <i>tangutorum</i> Roshev.	China	Song, Nan, неопубл.
KF905212		<i>E. dahuricus</i> var. <i>tangutorum</i> Roshev.	China	Song, Nan, неопубл.
KF600692		<i>E. gmelinii</i> (Ledeb.) Tzvel.	USA	Mason-Gamer [4]
	AY740883	<i>E. himalayanus</i> (Nevski) Tzvelev	China	Liu с соавторами [5]
KF600694		<i>E. mutabilis</i> (Drob.) Tzvel.	USA	Mason-Gamer [4]
KF600695		<i>E. nevskii</i> Tzvel.	USA	Mason-Gamer [4]
KF600696		<i>E. pendulinus</i> (Nevski) Tzvel.	USA	Mason-Gamer [4]
AY362786		<i>E. repens</i> (L.) Gould	USA	Mason-Gamer [4]
	KF713228	<i>E. repens</i> (L.) Gould	Republic of Korea	Lee J., Kim C.-S., Lee I. Y., неопубл.
	GQ373268	<i>E. repens</i> (L.) Gould	Turkey	Dizkirici с соавторами [2]
	EF396962	<i>E. sibiricus</i> L.	China	Zhang C., Fan X., Yu H., Zhang L., Ding C., Zhou Y., неопубл.
KF600698		<i>E. sibiricus</i> L.	USA	Mason-Gamer [4]
KF905225		<i>E. sibiricus</i> L.	China	Song, Nan, неопубл.
	GQ373309	<i>Agropyron cristatum</i> (L.) Beauv.	Turkey	Dizkirici с соавторами [2]
AF519116		<i>A. cristatum</i> (L.) Beauv.	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
AF519156		<i>Pseudoroegneria libonotica</i> (Hack.) D.R. Dewey	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
KF624612		<i>P. strigosa</i> (Schult.) Á.Löve	USA	Mason-Gamer, неопубл.
AF519159		<i>P. spicata</i> (Pursh) Á.Löve	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
KF600704		<i>P. tauri</i> (Boiss. & Bal.) Á.Löve	USA	Mason-Gamer [4]
	EF581974	<i>Leymus secalinus</i> (Georgi) Tzvelev	China	Liu с соавторами [10]

	EF581970	<i>L. salinus</i> (M. E. Jones) Á. Löve	China	Liu с соавторами [10]
	AY740877	<i>Hordeum brevisubulatum</i> (Trin.) Link	China	Liu с соавторами [10]
AF519121		<i>H. brevisubulatum</i> (Trin.) Link		Mason-Gamer с соавторами [9]
	KC193786	<i>H. murinum</i> L.	Saudi Arabia	Rabey [11]
KF600708		<i>H. vulgare</i> L.	USA	Mason-Gamer [4]
AF519123		<i>H. jubatum</i> L.	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
	GQ373320	<i>Hordelymus europaeus</i> (L.) Jess. ex Harz	Turkey	Dizkirici с соавторами [2]
AF519169		<i>Psathyrostachys fragilis</i> (Boiss.) Nevski	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
AF519170		<i>P. juncea</i> (Fisch.) Nevski	USA	Mason-Gamer с соавторами [9]
	KM077302	<i>Bromus lanceolatus</i> Roth	Spain	Alonso с соавторами [12]
	AY367949	<i>B. korotkiji</i> Drob.	Canada	Saarela с соавторами [13]
KF600709		<i>Bromus tectorum</i> L.	USA	Mason-Gamer [4]
	JF786330	<i>Poa alpigena</i> Lindm.	Россия	Родионов и др. [14]
KJ539162		<i>Poa khokhrjakovii</i> Prob.	Россия	Носов, неопубл.

использовали праймеры с, d, e, f [18]. Параметры амплификации: цикл — 3 мин, 94°C; 30 циклов — 30 с, 94°C; 40 с, 55°C; 1 мин, 72°C; цикл — 10 мин, 72°C. Препаративная ПЦР была проведена с использованием различных вариантов ДНК-полимераз в амплификационной смеси объемом 50 мкл: Taq-полимеразы («СибЭнзим», Россия), Thermo Scientific Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific, США), Maxima Hot Start Taq-полимеразы (Thermo scientific, Швеция), Phire Hot Start II ДНК-полимеразы (Thermo scientific, Швеция), а также соответствующих буферов для полимераз; кроме конкретного вида полимеразы и буфера в реакционную смесь были добавлены по 2 мМ каждого дезоксирибонуклеотида dATP, dTTP, dCTP, dGTP (Helicon, Россия), по 10 пмоль прямого и обратного праймера (Beagle, Россия), 2,5 мМ Mg²⁺ («СибЭнзим», Россия), 1–2 мкл препарата тотальной ДНК. Для определения размера амплифицированных фрагментов геномной ДНК методом электрофореза в 1%-ном агарозном геле применяли маркер Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (MBI Fermentas, Литва). Полученные в ходе амплификации фрагменты выделяли из 1%-ного агарозного геля с помощью набора QiaGen Extraction Kit (Qiagen, Inc., Германия).

Для установления 5'-3'-последовательности нуклеотидов молекулы ДНК интересующих участков применяли технику секвенирования с использованием флуоресцентно меченных терминирующих реакцию аналогов нуклеотидов в Центре коллективного пользования БИН РАН. Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США), для работы

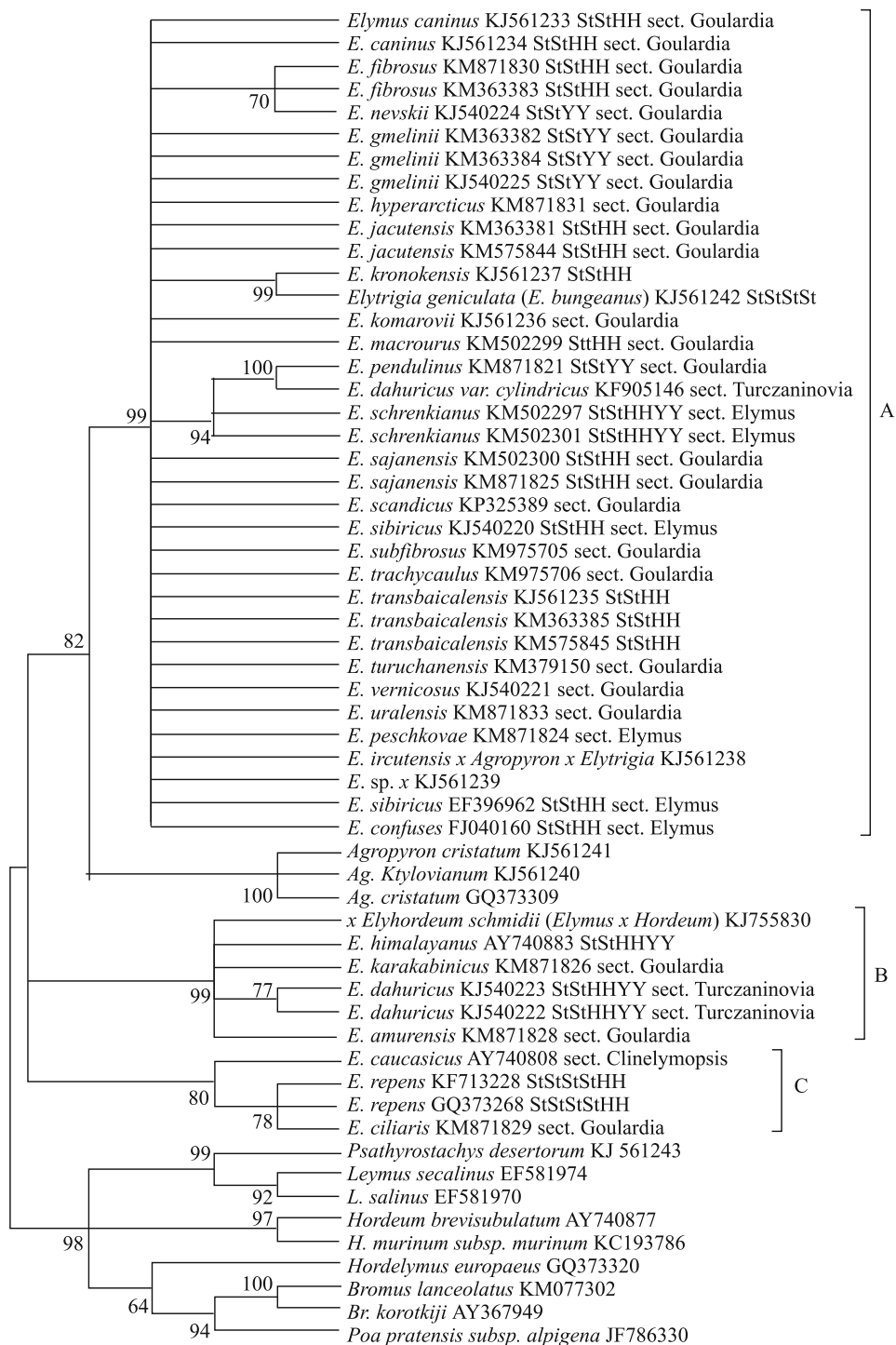


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа участка ITS1-5.8S рРНК-ITS2 методом Байеса, Mr. Bayes 3.2.2, модели GTR+I+G, в течение 1 000 000 репликаций до достижения значения показателя standard deviation ниже 0,01

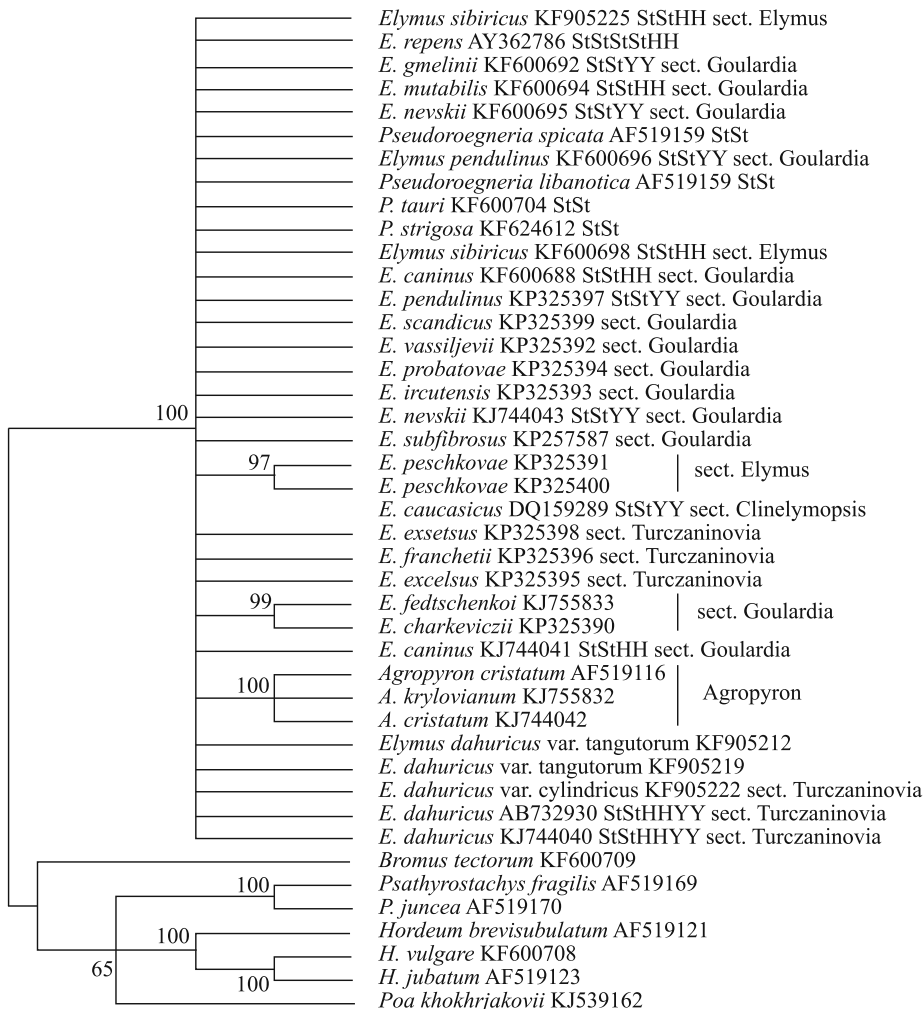


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа участка *trnL-trnF* методом Байеса, Mr. Bayes 3.2.2, модели GTR+I+G, в течение 1 000 000 репликаций до достижения значения показателя standard deviation ниже 0,01

использовали флуоресцентно меченные 2', 3'-дидезоксинуклеозидтрифосфаты набора BigDye 3.1 (Applied Biosystems, США). Последовательности были выровнены с помощью пакета программ MEGA6 с последующей визуальной проверкой. Молекулярно-филогенетический анализ проводился по методу Байеса с помощью программы Mr. Bayes 3.2.2 с использованием модели GTR+I+G (для ITS и *trnL-trnF* последовательностей), в течение 1 000 000 репликаций до достижения значения показателя standard deviation ниже 0,01.

Результаты и обсуждение

Длина последовательностей ITS1-5.8S рРНК-ITS2 видов *Elymus* составила от 599 до 602 позиций, из них вариабельных позиций — 62. Длина ITS1 от мотива TCGT до TTAATC у изученных нами видов *Elymus* L. варьировала от 219 до 221 пар нуклеотидов (в связи с наличием в нуклеотидных последовательностях делеций). Длина ITS2 от мотива СААААСА до мотива ТТСГАСС варьировала от 216 до 217 п.н. Длина 5.8S рДНК от мотива САСАСГАС до мотива СГТСАСГС у изученных нами видов *Elymus* L. составляла в среднем 164 п.н. Длина проанализированных последовательностей *trnL-trnF* включает 1091 выровненную позицию, вариабельных — 109.

На примере высших растений было показано, что возможна полная гомогенизация ITS-последовательностей у гибридов [19]. Межвидовая гибридизация среди таксонов трибы Triticeae является причиной возникновения аллополиплоидных видов. В своей работе Рэдинбах с соавт. [20] исследовали хлоропластный ген *ndhF* у 29 представителей трибы Triticeae, в состав генома которых входил субгеном St в комбинации с одним или несколькими субгеномами: H, I, Ns, P, W, Y, Xm. Изученные последовательности *ndhF* сравнили с хлоропластными последовательностями диплоидных и аллотетраплоидных видов Triticeae, также содержащих H, I, Ns, P, W, St, Xm геномы. Neighbor-joining анализ последовательностей выявил, что *ndhF* ДНК-последовательности видов, содержащих субгеном St, формируют кладу с высоким уровнем поддержки. Полученные данные говорят о преимущественном наследовании последовательностей хлоропластной ДНК от родителя с субгеномом St при гибридизации между видами трибы Пшеницевые [20]. Для родов *Zingeria*, *Hordeum* и *Avena* было показано присутствие в полиплоидных геномах генов рРНК преимущественно одного из субгеномов, в то время как гены рРНК другого субгенома утрачены полностью или частично [19, 21, 22].

При тотальном секвенировании ITS1-5.8S рРНК-ITS2 *Elymus* преимущественно амплифицируются последовательности из субгенома St (*Pseudoroegneria* или *Elytrigia*). По топологии дерева, построенные методами NJ и Байеса для последовательностей ITS1-5.8S рРНК-ITS2 ядерного генома, почти полностью совпадают. На представленном филогенетическом дереве (метод Байеса, рис. 1.) ITS-последовательности 4 родов трибы Triticeae: *Elymus*, *Elytrigia*, *Agropyron* и *Elyhordeum*, образуют общую группу, во внешней группе находятся представители родов *Psathyrostachys*, *Leymus* и *Hordeum* трибы Triticeae, а также представители родов *Bromus* и *Poa*. Клада А (bootstrap=99%) образована ITS-последовательностями видов *Elymus*, принадлежащих к 3 секциям: Turczaninovia, Goulardia (подсекции Curvati, Subsecundi, Canini, Trachycauli, Boreales — [1]) и *Elymus*, а также ITS-последовательностью *Elytrigia geniculata*. Образцы *Elymus nevskii* (подсекция Curvati) и *Elymus fibrosus* (подсекция Fibrosi) образуют умеренно поддержанную субкладу (bootstrap=70%). Интересно отметить, что *Elymus kronokensis* образует субкладу (bootstrap=99%) с тетраплоидом *Elytrigia geniculata* (секция Pseudoroegneria). Также в состав клады А входит субклада (bootstrap=94%), представленная ITS-последовательностями следующих видов: *E. pendulinus*, *E. dahuricus* var. *cylindricus*, *E. schrenkianus*. 3 вида рода *Agropyron* образуют кладу с индексом будстреп-поддержки 100. Последовательность вида *x Elyhordeum schmidii* вместе с последова-

тельностьми *Elymus karakabanicus*, *Elymus amurensis* (секция Goulardia), *Elymus dahuricus* (секция Turczaninovia) и *Elymus himalayanus* (Китай, [5]) образуют кладу В (bootstrap=99%). Кладу С (bootstrap=80%) образуют последовательности следующих видов: *Elymus caucasicus* (секция Clinelymopsis), *Elymus ciliaris* (секция Goulardia) и *Elymus repens*.

На представленном филогенетическом дереве (метод Байеса, рис. 2) последовательности *trnL-trnF* 3 родов трибы Triticeae: *Elymus*, *Elytrigia*, *Agropyron*, образуют общую группу с бутстреп-индексом 100, во внешней группе находятся представители родов *Psathyrostachys*, *Hordeum* трибы Triticeae, а также представители родов *Brachypodium* и *Poa*. Клада А (bootstrap=100%) образована последовательностями *trnL-trnF* видов *Elymus*, принадлежащих к 4 секциям: Turczaninovia, Goulardia, Clinelymopsis, Elymus, а также последовательностями *Elytrigia tauri*, *Agropyron cristatum*, *Agropyron krylovianum*.

Разделение секции Goulardia рода *Elymus* на подсекции согласно новой обработке данного рода [1] по результатам анализа ITS-последовательностей ядерного генома и последовательностей *trnL-trnF* генома хлоропластов не выявлено. В первой системе рода *Elymus* [3] секция Goulardia не была разделена на подсекции, что согласуется с данными, полученными нами по ITS и *trnL-trnF* маркерам.

Некоторые западноевропейские авторы объединяют роды *Elytrigia* и *Elymus*, но более близкий к роду *Elytrigia*, чем к *Elymus*, род *Agropyron* признают самостоятельным. Действительно, согласно нашим данным, последовательности ITS и *trnL-trnF* видов *Elymus* и *Elytrigia* на молекулярно-филогенетических деревьях входят в общие клады. Наши данные, основанные на изучении изменчивости последовательностей ITS, говорят о том, что ITS-последовательности видов секций Elymus, Goulardia и Turczaninovia образуют общую кладу (клада А, рис 1.), также показано родство нуклеотидных последовательностей, относящихся к секциям Goulardia и Clinelymopsis. Наши данные подтверждают данные, полученные по низкокопийным ядерным генам [4]. Молекулярно-филогенетические деревья, реконструированные на основе последовательностей генов *trnT/L/F* и спейсеров и гена *rpoA* генома хлоропластов видов рода *Elymus* и трех низкокопийных ядерных генов (ПЕРС, бета-амилазы, GBSSI) в работе Мэйсон-Геймер [4], разделены на клады согласно субгеномам последовательностей. Отметим, что субгеномы разных Пырейников, согласно деревьям, полученным на основе хлоропластных и трех ядерных генов [4], происходят от разных видов *Pseudoroegneria* (= *Elytrigia* sect. *Pseudoroegneria*), что соответствует нашим данным, хотя в нашей работе были использованы сиквенсы других видов *Pseudoroegneria* (возможно, сибирские полиплоиды происходят от сибирских диплоидов). Мы предполагаем, что разные секции *Elymus* происходят от разных диплоидов *Elytrigia*.

В работе китайских авторов [5] молекулярно-филогенетические деревья на основе последовательностей ITS и *trnL-trnF* также разделены на клады согласно субгеномам последовательностей. На молекулярно-филогенетическом дереве на основе ITS-последовательностей ядерного генома и последовательностей *trnL-trnF* генома хлоропластов было показано родство секций Goulardia и Clinelymopsis, также отметим, что последовательности видов рода *Pseudoroegneria* образуют общие клады с видами *Elymus* [5].

Выводы

Секвенирование и сравнительный анализ 38 последовательностей ITS1-5.8S рРНК-ITS2 ядерного генома видов рода *Elymus*, 1 вида *Elytrigia*, 1 вида *Psathyrostachys*, 1 вида *Elyhordeum* и 3 последовательностей ITS видов рода *Agropyron* показал, что виды рода *Elymus* имеют 3 гаплотипа: 1) гаплотипы группы А найдены у видов *Elymus* секций *Turczaninovia*, *Gouardia* и *Elymus* и вида *Elytrigia geniculata*; 2) гаплотипы группы В характерны для видов *Elymus* секций *Gouardia* и *Turczaninovia*, вида *Elyhordeum schmidii* и *Elymus himalayanus*; 3) гаплотипы группы С — для видов секций *Gouardia* и *Clinelymopsis* и вида *E. repens*. Секвенирование и сравнительный анализ 16 последовательностей *trnL-trnF* генома хлоропластов видов *Elymus* и 2 видов рода *Agropyron* выявил, что виды *Elymus* секций *Turczaninovia*, *Gouardia*, *Clinelymopsis* и *Elymus* имеют 1 гаплотип на молекулярно-филогенетическом дереве, построенном методом Байеса. Виды *Elymus* секций *Turczaninovia*, *Gouardia*, *Clinelymopsis* и *Elymus*, *E. tuari* (*Elytrigia tauri*) и виды *Agropyron* образуют общую кладу на молекулярно-филогенетическом дереве, метод Байеса. ITS и *trnL-trnF* деревья показали особенно близкое родство видов *Elytrigia* и *Elymus*.

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность члену-корреспонденту РАН, д-ру биол. наук, проф. Н. Н. Цвелёву(†), за неоценимые консультации и помощь в определении образцов, коллективу Лаборатории Биосистематики и цитологии: д-ру биол. наук А. В. Родионову, д-ру биол. наук В. С. Чупову, д-ру биол. наук В. С. Шнеер, канд. биол. наук Э. М. Мачсу, инженеру Е. Е. Крапивской, а также К. Г. Петровой за помощь в работе.

Литература

1. Цвелёв Н. Н. О роде *Elymus* L. (*Poaceae*) в России // Бот. журн. 2008. Т. 93, № 10. С. 1587–1596.
2. Dizkirci A., Kaya Z., Cabi E., Dogan M. Phylogenetic relationships of *Elymus* L. and related genera (*Poaceae: Triticeae* Dumort.) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer sequences // Turk. J. of Botany. 2010. Vol. 3, N 6. P. 467–478.
3. Цвелёв Н. Н. Злаки СССР. Л.: Наука, 1976. 788 с.
4. Mason-Gamer R. J. Phylogeny of a Genomically Diverse Group of *Elymus* (*Poaceae*) Allopolyploids Reveals Multiple Levels of Reticulation // PLoS ONE. 2013. 8:e78449.
5. Liu Q., Ge S., Tang H., Zhang X., Zhu G., Lu B. R. Phylogenetic relationships in *Elymus* (*Poaceae: Triticeae*) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences // New Phytol. 2006. Vol. 170, N 2. P. 411–420.
6. Матвеева Т. В., Павлова О. А., Богомаз Д. И., Демкович А. Е., Лутова Л. А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экологическая генетика. 2011. Т. 9, № 1. С. 32–43.
7. Alvarez E., Wendel J. F. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. Vol. 29. P. 417–434.
8. Matsushima R., Yamashita J., Kariyama S., Enomoto T., Sakamoto W. A Phylogenetic reevaluation of morphological variations of starch grains among *Poaceae* species // J. Appl. Glycosci. 2013. Vol. 60. P. 37–44.
9. Mason-Gamer R. J., Orme N. L., Anderson C. M. Phylogenetic analysis of North American *Elymus* and the monogenomic *Triticeae* (*Poaceae*) using three chloroplast DNA data sets // Genome. 2002. Vol. 45, N 6. P. 991–1002.
10. Liu Z., Chen Z., Pan J., Li X., Su M., Wang L., Li H., Liu G. Phylogenetic relationships in *Leymus* (*Poaceae: Triticeae*) revealed by the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 2008. Vol. 46, N 1. P. 278–289.

11. Rabey H. E. Comparison of the internal transcribed spacer region (ITS) of the ribosomal RNA genes in wild and cultivated two and six-rowed barleys (*Hordeum vulgare* L.) // Mol. Biol. Rep. 2014. Vol. 41, N 2. P. 849–854.
12. Alonso A., Bull R. D., Acedo C., Gillespie L. J. Design of plant-specific PCR primers for the ETS region with enhanced specificity for tribe Bromeae and their application to other grasses (*Poaceae*) // Botany. 2014. Vol. 92, N 10. P. 693–699.
13. Saarela J. M., Peterson P. M., Keane R. M., Cayouette J., Graham S. W. Molecular phylogenetics of the genus *Bromus* (*Poaceae: Pooideae*) based on nuclear and chloroplast DNA sequence data // Aliso. 2007. Vol. 23. P. 450–467.
14. Родионов А. В., Носов Н. Н., Ким Е. С., Мачс Э. М., Пунина Е. О., Пробатова Н. С. Происхождение полиплоидных геномов мятликов (Роа L.) и феномен потока генов между Северной Пацификой и суб-антарктическими островами // Генетика. 2010. Т. 46, № 12. С. 1598–1608.
15. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochemical Bulletin. 1987. Vol. 19. P. 11–15.
16. Ridgway K. P., Duck J. M., Young J. P. W. Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid trnL (UAA) intron // BMC Ecology. 2003. Vol. 3(8e).
17. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR protocols: a guide to methods and applications / Eds M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White. New York: Academic Press, Inc., 1990. P. 315–322.
18. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Molec. Biology. 1991. Vol. 17. P. 1105–1109.
19. Родионов А. В., Тюна Н. Б., Ким Е. С., Мачс Э. М., Лоскутов И. Г. Геномная конституция автотетраплоидного овса *Avena macrostachya*, выявленная путем сравнительного анализа последовательностей ITS1 и ITS2: к вопросу об эволюции кариотипов овсов и овсюгов на ранних этапах дивергенции видов рода *Avena* // Генетика. 2005. Т. 41, № 5. С. 646–656.
20. Redinbaugh M. G., Jones T. A., Zhang Y. T. Ubiquity of the St chloroplast genome in St containing *Triticeae* polyploids // Genome. 2000. Vol. 43. P. 846–852.
21. Kotscheruba V., Gernand D., Meister A., Houben A. Uniparental loss of ribosomal DNA in the allotetraploid grass *Zingeria trichopoda* (2n=8) // Genome. 2003. Vol. 46. P. 156–163.
22. Blattner P. R. Phylogenetic analysis of *Hordeum* (*Poaceae*) as inferred by nuclear rDNA ITS sequences // Molec. Phylogenet. and Evolut. 2004. Vol. 33. P. 289–299.

References

1. Tsvelev N. N. O rode *Elymus* L. (*Poaceae*) v Rossii [On the genus *Elymus* L. (*Poaceae*) in Russia]. *Bot. zhurn.* [Bot. Zhurn.], 2008, vol. 93, no. 10, pp. 1587–1596. (In Russian)
2. Dizkirici A., Kaya Z., Cabi E., Dogan M. Phylogenetic relationships of *Elymus* L. and related genera (*Poaceae: Triticeae* Dumort.) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer sequences. *Turk. J. of Botany*, 2010, vol. 3, no. 6, pp. 467–478.
3. Tsvelev N. N. *Zlaki SSSR [Grasses of the USSR]*. Leningrad, Nauka Publ., 1976. 788 p. (In Russian)
4. Mason-Gamer R. J. Phylogeny of a Genomically Diverse Group of *Elymus* (*Poaceae*) Allopolyploids Reveals Multiple Levels of Reticulation. *PLoS ONE*. 2013. 8:e78449.
5. Liu Q., Ge S., Tang H., Zhang X., Zhu G., Lu B. R. Phylogenetic relationships in *Elymus* (*Poaceae: Triticeae*) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL-F sequences. *New Phytol.*, 2006, vol. 170, no. 2, pp. 411–420.
6. Matveeva T. V., Pavlova O. A., Bogomaz D. I., Demkovich A. E., Lutova L. A. Molekuliarnye markery dlia vididentifikatsii i filogenetiki rastenii [Molecular markers for plant species identification and phylogenetics]. *Ekologicheskaya genetika [Ecological genetics]*, 2011, vol. 9, no. 1, pp. 32–43. (In Russian)
7. Alvarez E., Wendel J. F. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, vol. 29, pp. 417–434.
8. Matsushima R., Yamashita J., Kariyama S., Enomoto T., Sakamoto W. A Phylogenetic reevaluation of morphological variations of starch grains among *Poaceae* species. *J. Appl. Glycosci.*, 2013, vol. 60, pp. 37–44.
9. Mason-Gamer R. J., Orme N. L., Anderson C. M. Phylogenetic analysis of North American *Elymus* and the monogenomic *Triticeae* (*Poaceae*) using three chloroplast DNA data sets. *Genome*, 2002, vol. 45, no. 6, pp. 991–1002.
10. Liu Z., Chen Z., Pan J., Li X., Su M., Wang L., Li H., Liu G. Phylogenetic relationships in *Leymus* (*Poaceae: Triticeae*) revealed by the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL-F sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2008, vol. 46, no. 1, pp. 278–289.

11. Rabey H. E. Comparison of the internal transcribed spacer region (ITS) of the ribosomal RNA genes in wild and cultivated two and six-rowed barleys (*Hordeum vulgare* L.). *Mol. Biol. Rep.*, 2014, vol. 41, no. 2, pp. 849–854.
12. Alonso A., Bull R. D., Acedo C., Gillespie L. J. Design of plant-specific PCR primers for the ETS region with enhanced specificity for tribe Bromeae and their application to other grasses (Poaceae). *Botany*, 2014, vol. 92, no. 10, pp. 693–699.
13. Saarela J. M., Peterson P. M., Keane R. M., Cayouette J., Graham S. W. Molecular phylogenetics of the genus *Bromus* (Poaceae: Pooideae) based on nuclear and chloroplast DNA sequence data. *Aliso*, 2007, vol. 23, pp. 450–467.
14. Rodionov A. V., Nosov N. N., Kim E. S., Machs E. M., Punina E. O., Probatova N. S. Proiskhozhdenie poliploidnykh genomov miatlikov (*Poa* L.) i fenomen potoka genov mezhdru Severnoi Patsifikoi i sub-antarkticheskimi ostrovami [The origin of polyploid genomes of bluegrasses *Poa* L. and gene flow between northern pacific and sub-antarctic islands]. *Genetika* [*Russ. J. Genet.*], 2010, vol. 46, no. 12, pp. 1598–1608. (In Russian)
15. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 1987, vol. 19, pp. 11–15.
16. Ridgway K. P., Duck J. M., Young J. P. W. Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid trnL (UAA) intron. *BMC Ecology*, 2003, vol. 3(8e).
17. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Eds M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White. New York, Academic Press, Inc., 1990, pp. 315–322.
18. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molec. Biology*, 1991, vol. 17, pp. 1105–1109.
19. Rodionov A. V., Tiupa N. B., Kim E. S., Machs E. M., Loskutov I. G. Genomnaia konstitutsiia avtotetraploidnogo ovsa *Avena macrostachya*, vyivleniia putem sravnitel'nogo analiza posledovatel'nostei ITS1 i ITS2: k voprosu ob evoliutsii kariotipov ovsov i ovsiugov na rannikh etapakh divergentsii vidov roda *Avena* [Genomic configuration of the autotetraploid oat species *Avena macrostachya* inferred from comparative analysis of ITS1 and ITS2 sequences: on the oat caryotype evolution during the early events of the *Avena* species divergence]. *Genetika* [*Russ. J. Genet.*], 2005, vol. 41, no. 5, pp. 646–656. (In Russian)
20. Redinbaugh M. G., Jones T. A., Zhang Y. T. Ubiquity of the St chloroplast genome in St containing Triticeae polyploids. *Genome*, 2000, vol. 43, pp. 846–852.
21. Kotseruba V., Gernand D., Meister A., Houben A. Uniparental loss of ribosomal DNA in the allotetraploid grass *Zingeria trichopoda* (2n=8). *Genome*, 2003, vol. 46, pp. 156–163.
22. Blattner P. R. Phylogenetic analysis of *Hordeum* (Poaceae) as inferred by nuclear rDNA ITS sequences. *Molec. Phylogenet. and Evolut.*, 2004, vol. 33, pp. 289–299.

Статья поступила в редакцию 5 октября, принята 26 октября 2015 г.

Сведения об авторах:

Добрякова Ксения Сергеевна — младший научный сотрудник

Носов Николай Николаевич — кандидат биологических наук, научный сотрудник

Dobryakova Kseniya S. — Researcher

Nosov Nikolay N. — PhD, Researcher