

На правах рукописи

ГЕРУС Дина Евгеньевна

**МОДЕЛИРОВАНИЕ И РЕГИСТРАЦИЯ ИНТРОГРЕССИВНЫХ
ПРОЦЕССОВ МЕЖДУ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ
РОДА *ELYMUS* (РОАСЕАЕ)**

03.00.05 — “Ботаника”

03.00.15 — “Генетика”

Диссертация -

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Новосибирск — 2008

Работа выполнена в Центральном сибирском ботаническом саду Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск.

Научный руководитель — доктор биологических наук, с.н.с.
Агафонов Александр Викторович.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, с.н.с.
Байков Константин Станиславович;
доктор биологических наук, с.н.с.
Гончаров Николай Петрович.

Ведущая организация — Главный ботанический сад РАН, г. Москва.

Защита состоится 18 июня 2008 г. в 10⁰⁰ часов на заседании совета Д 003.058.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН по адресу: 630090, Новосибирск-90, ул. Золотодолинская, 101.

Факс: (383)330–19–86.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Центрального сибирского ботанического сада СО РАН.

Автореферат разослан 12 мая 2008 г.

Ученый секретарь совета,
доктор биологических наук



Э. А. Ершова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Род *Elymus* L. самый крупный и наиболее широко распространенный в трибе *Triticeae* Dum., семейства *Poaceae* Barnh. Геномная конституция видов рода *Elymus* L. образована базисными гапломами (St, Y, H, P, W), филогенетически достаточно отдаленными от основных гапломов пшеницы и ячменя. Основные задачи в рамках фундаментальных исследований рода лежат в области идентификации и филогенетических взаимоотношений доноров базисных гапломов, кроме того, актуальны проблемы, связанные с видообразованием, внутривидовой и межвидовой дифференциацией.

Наибольшее видовое разнообразие рода *Elymus* отмечено в Центральной Азии, где, видимо, находится центр происхождения большинства гапломных комбинаций, образующих геномную основу рода. На территории России и бывших республик СССР произрастает 72 вида рода *Elymus* (Черепанов, 1995). Ряд биологических особенностей затруднит понимание таксономических и эволюционных взаимоотношений внутри рода. К таким особенностям, в первую очередь, относятся: генетически обусловленная внутривидовая изменчивость, фенотипическая пластичность под влиянием условий среды и весьма распространенная спонтанная межвидовая гибридизация. Часто обнаруживаются природные образцы, которые могут быть идентифицированы как морфологически отклоняющиеся или промежуточные формы, и только небольшая часть из них легко идентифицируется как межвидовые гибриды первого поколения. Некоторые из таких форм, или морфотипов, являются самофертильными и составляют основу стабильных микропопуляций.

Воспроизведение природных межвидовых гибридов часто следует по определенному пути, известному под названием интрогрессивной гибридизации, или интрогрессии. В литературных источниках прослеживаются две точки зрения на эволюционную значимость природной гибридизации. Некоторые исследователи (Бобров, 1970, 1972) считают, что интрогрессивная гибридизация не создает новых устойчивых линий развития, а, следовательно, эволюционно неперспективна. Однако другие рассматривали гибридизацию как важный фактор эволюции растений (Попов, 1927, 1928, 1956; Вавилов, 1938; Комаров, 1940; Грант, 1980; Stebbins, 1959; 1969; Grant, 1971).

Обычно второе поколение межвидовых гибридов, в случае его образования, обладает большой изменчивостью, но одновременно резко сниженной пыльцевой и семенной фертильностью, или полной стерильностью. Это может вызываться различными причинами на хромосомном уровне. Считается, что преобладающее большинство полиплоидных видов в природе — аллополиплоиды (амфиплоиды), т. е. их возникновение связано с гибридизацией, что влечет за собой объединение геномов разных видов (Arnold, 1997). Амфиплоиды в большей или меньшей степени репродуктивно изолированы от родительских форм и воспроизводят в чистоте свою конституцию. Амфиплоидия, а также апомиксис, способствуют преодолению стерильности гибридов и создают предпосылки для внезапного (сальтационного) видообразования. Иногда межвидовые гибриды у растений могут стабилизироваться без удвоения числа хромосом. Перенос генов с одного вида на другой может проходить с дополнитель-

ным возвратным или нормализующим скрещиванием, и тогда мы говорим об интрогрессивной гибридизации.

Литературные данные о механизмах интрогрессивной гибридизации в роде *Elymus* носят фрагментарный характер. Строго доказанных сведений об интрогрессии между азиатскими видами рода обнаружить не удалось. Тем не менее, этот феномен вызывает несомненный интерес как один из факторов микроэволюции и современного видообразования. Кроме теоретического значения в общебиологическом смысле, имеет место прикладное значение, так как экспериментально доказанная возможность генетической интрогрессии между видами *Elymus* дает возможность использовать генфонд видов для переноса требуемых качеств в селекционные формы кормового назначения. Более отдаленная перспектива заключается в изучении возможности переноса генетического материала видов рода в ценнейшие хлебные культуры — пшеницу, ячмень, рожь, собственный генетический потенциал которых в целях селекции практически исчерпан.

Цель и задачи исследования. Целью исследований являлось изучение возможности межвидовой интрогрессии между некоторыми StH-геномными видами *Elymus* в эксперименте с контролем всех этапов половой репродукции гибридов путем морфологического и электрофоретического анализа поколений. Для достижения цели необходимо было поставить и решить следующие задачи:

1. Провести анализ морфологических признаков гербарного и живого коллекционного материала *E. caninus* (L.) L., *E. fibrosus* (Schrenk) Tzvel., *E. mutabilis* (Drob.) Tzvel., *E. transbaicalensis* (Nevski) Tzvel., *E. komarovii* (Nevski) Tzvel., *E. sajanensis* (Nevski) Tzvel. и *E. kronokensis* (Kom.) Tzvel.; выявить типичные и морфологически отклоняющиеся формы (МОФ), в большей или меньшей степени не соответствующие описаниям видов.
2. Изучить изменчивость и специфичность полипептидных спектров белков эндосперма и субфракционного состава гистона H1 среди выборочных биотипов *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis* и серии МОФ.
3. Провести серию скрещиваний и отобрать ранее полученные половые гибриды для изучения нисходящих поколений в условиях культуры.
4. Вырастить и проанализировать гибридные выборки растений в поколениях F₂-F₅ в комбинациях скрещивания *E. caninus* x *E. fibrosus*, *E. caninus* x *E. mutabilis*, *E. transbaicalensis* x *E. komarovii*, в том числе с участием морфологически отклоняющихся форм.
5. Провести исследование электрофоретических спектров запасных белков эндосперма исходных родительских форм и их межвидовых гибридов в поколениях в SDS гелево-буферной системе.
6. Изучить особенности протекания интрогрессивных процессов между видами *Elymus* в вышеназванных комбинациях скрещивания в эксперименте, оценить возможность протекания интрогрессии между видами в природных популяциях.
7. По результатам проведенных исследований внести уточнения в существующую модель рекомбинационных и интрогрессивных генпулов.

Защищаемые положения:

1. Одномерный SDS-электрофорез запасных белков эндосперма является более эф-

фективным способом регистрации интрогрессивных процессов у видов рода *Elymus*, в сравнении с традиционными методами гибридного индекса и многомерных диаграмм.

2. Результаты моделирования интрогрессивных процессов в эксперименте через межвидовую гибридизацию в целом согласуются с данными о характере изменчивости по морфологическим признакам у исследуемых видов в природе и позволяют прогнозировать прохождение аналогичных процессов в популяциях.

Научная новизна работы. Впервые показана возможность регистрации интрогрессивной гибридизации в природных популяциях рода *Elymus* с помощью одномерного SDS-электрофореза запасных белков эндосперма.

В эксперименте впервые показана возможность протекания интрогрессии между *E. caninus* и *E. fibrosus*, а также характер репродуктивных взаимоотношений (одноступенчатая рекомбинация или интрогрессия) у видовых пар *E. caninus* — *E. mutabilis* и *E. transbaicalensis* — *E. komarovii* в зависимости от географического происхождения родительских биотипов.

Впервые изучена изменчивость по гистону H1 у близких видов *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis* в связи с географической дифференциацией. Показано, что центр происхождения и генетического разнообразия *E. komarovii* находится на территории Алтайской горной страны.

Теоретическое и практическое значение работы. Данные об изменчивости по морфологическим и биохимическим признакам видов у *E. fibrosus*, *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis*, *E. kronokensis* и усовершенствованная модель генпулов названных видов имеют теоретическое значение для понимания объема и структуры вида и могут быть использованы в систематике, таксономии и филогении.

Экспериментально доказанная возможность протекания рекомбинации и интрогрессии между выборочными биотипами разных видов *Elymus* проясняет особенности современного видообразования в природных популяциях и позволяет использовать генофонд разных видов в селекции форм кормового назначения.

Полученные данные могут быть использованы при отборе генотипов для сохранения в генбанках для целей интродукции и охраны природного генофонда.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на II и VI международных научно-практических конференциях “Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии” (Барнаул, 2003, 2007); II молодежной конференции “Исследования молодых ботаников Сибири” (Новосибирск, 2004); VIII и IX Молодежной конференции ботаников в Санкт-Петербурге (2004, 2006); Всероссийской научной конференции с международным участием “Проблемы сохранения разнообразия растительного покрова Внутренней Азии” (Улан-Удэ, 2004); Пятом международном симпозиуме по Пшеницевым (5th International *Triticeae* Symposium, Чехия, Прага, 2005); Третьей интеграционной междисциплинарной конференции молодых ученых СО РАН и высшей школы (Иркутск, 2005); I (III) Всероссийской молодежной научно-практической конференции ботаников в Новосибирске “Перспективы развития и проблемы современной ботаники” (Новосибирск, 2007).

Публикации. Автором опубликовано 17 печатных работ по теме диссертации, в т. ч. 1 статья в рецензируемом журнале.

Объем и структура работы. Работа состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы и приложения. Диссертация изложена на 224 страницах, включает 31 таблицу и 71 рисунок. Список цитированной литературы содержит 243 источника, из них 153 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность О.В. Дорогиной, Н.К. Бадмаевой, М.А. Азаркиной, В.В. Никитину, В.Н. Войлоковой, В.Ф. Семихову, О.А. Новожиловой, Л.П. Арефьевой, Е.В. Мишановой, С.В. Лукьянчикову за помощь в проведении исследований и критическое обсуждение результатов.

ГЛАВА 1. ИНТРОГРЕССИВНАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ И ЕЕ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ РАСТЕНИЙ

Глава состоит из четырех разделов. В первом разделе приводится история развития представлений о механизме интрогрессии (Anderson, Hubricht, 1938; Anderson, 1949, 1953; Бобров, 1944, 1961, 1972). Во втором разделе рассмотрены разные точки зрения о роли интрогрессии в эволюции. В третьей части главы рассмотрены методы исследования интрогрессии. В четвертом разделе дается общая характеристика и геномная конституция видов рода *Elymus*. Рассмотрен принцип рекомбинационных (РГП) и интрогрессивных (ИГП) генпулов предложенный А.В. Агафоновым (1997; 2003; Agafonov, 1994; Agafonov, Salomon, 2002). Для самоопыляющихся видов рода *Elymus* РГП определен как совокупность особей, которые могут формировать половые гибриды со следующими характеристиками:

1. Семенная фертильность (СФ) **самоопыленных** гибридов F_1 выше нуля;
2. Значения СФ у растений в поколении F_2 после **самоопыления** могут варьировать от нуля до нормальных значений, установленных для родительских биотипов.

ИГП определен как совокупность РГП, особи которых могут формировать половые гибриды со следующими характеристиками:

1. Значения СФ самоопыленных гибридов F_1 выше нуля, но все растения в поколении F_2 полностью стерильны **после самоопыления** (β_1 -уровень);
2. **Самоопыленные** гибриды F_1 стерильны уже в поколении F_1 (β_2 -уровень);
3. Восстановление полового размножения возможно только после однократного или многократных возвратных скрещиваний. Случайный перенос фрагментов наследственного материала от одного родительского РГП к другому (интрогрессивные явления) может происходить путем однократного или многократных возвратных скрещиваний, но при этом существует вероятность образования новых РГП.

Согласно принципу РГП—ИГП, если биотипы двух таксономических видов принадлежат к одному генпулу со свободной рекомбинацией, т. е. совместимы на α_1 -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.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Растительный материал. В работе использовались семена дикорастущих растений рода *Elymus*, собранные в Сибири и на Дальнем Востоке России лично автором, сотрудниками ЦСБС СО РАН, а также коллекционные образцы, любезно предоставленные шведским ботаником Б. Саломоном. Морфологические признаки изучаемых образцов уточнялись и регистрировались на живых особях, выращенных на открытых делянках и в условиях климокамеры. Видовую принадлежность материала определяли по современным региональным флорам и определителям (Цвелев, 1976; Пробатова, 1985; Пешкова, 1990).

Электрофорез. Выделение белков эндосперма проводили по методике для анализа многолетних пшеницевых злаков (Агафонов, Агафонова, 1989, 1992). Из каждой зерновки получали два типа белкового экстракта — без обработки 2-меркаптоэтанолом (вариант –Me) и с обработкой (вариант +Me). Гистоны H1 выделяли согласно методике С.М. Розова и соавт. (1986), электрофорез в SDS-системе Laemmli (1970) проводили с модификацией (Костина, Агафонов, 2002).

Статистический анализ. На основе электрофореграмм запасных белков эндосперма и гистона H1 строили бинарную матрицу по присутствию (1) и отсутствию (0) компонента для каждого из изученных образцов. Дендрограммы выполняли с использованием коэффициента “Манхэттен расстояний” (Manhattan distance) по методам Уорда (Ward’s method) и “полной связи” (complete linkage). Для анализа изменчивости качественных и количественных морфологических признаков на основе матрицы строили трехмерные диаграммы. Кластерный анализ и построение трехмерных диаграмм проводили с помощью программы STATISTICA.

Половая гибридизация выборочных биотипов. Гибридизацию растений проводили по методике В.-R. Lu, R. von Bothmer (1990) или по разработанной экспресс-методике (Агафонов, 2004).

ГЛАВА 3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПРОЦЕССОВ МЕЖДУ *ELYMUS CANINUS* И *E. FIBROSUS* И ИХ РЕГИСТРАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ОДНОМЕРНОГО SDS-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Основными морфологическими отличиями *E. fibrosus* от *E. caninus* являются более узкие листовые пластинки (ЛП), отсутствие остей нижних цветковых чешуй (НЦЧ), а также меньшее число цветков в колоске. Кроме того, эти два вида имеют различную экологию. Местообитанием *E. fibrosus* являются преимущественно малоувлажненные, хорошо дренированные почвы на открытых луговых склонах и долинных лугах, в то время как для *E. caninus* характерно произрастание в более влажных и затененных местах. Известно, что изменчивость по молекулярным маркерам в популяциях *E. caninus* намного выше, чем изменчивость, обнаруженная у *E. fibrosus* в пределах более обширного ареала (Sun et al., 2001).

Для исследования использовали сибирские, дальневосточные и скандинавские образцы *E. fibrosus*, а также 4 образца *E. caninus*. По морфологическим признакам выращенные растения из разных природных образцов *E. fibrosus* показали низкую изменчивость по качественным признакам стебля, ЛП и частей колоса.

Электрофоретический анализ запасных белков эндосперма природных образцов *E. fibrosus*. Проведена оценка внутривидовой изменчивости *E. fibrosus* из разных географических точек. Электрофорез в двух вариантах (–Me и +Me) показал наличие у всех образцов *E. fibrosus* консервативных инвариантных проламинов, которые могут считаться в той или иной мере видоспецифичными. Наибольшая изменчивость по полипептидным компонентам наблюдалась в области 45–80 ед. относительной электрофоретической подвижности (ОЭП). Электрофоретический тест для выявления неоднородности семян внутри колоса по полипептидным спектрам подтвердил данные о самоопылении как основной форме размножения, характерной для большинства видов рода *Elymus* (Агафонов, Агафонова, 1990; Агафонов, Баум, 2000). Существенных различий в структуре спектров между азиатскими и скандинавскими образцами *E. fibrosus* не обнаружено.

По сравнению с литературными данными о полиморфизме *E. caninus* (Агафонов, Костина, 2003), изменчивость *E. fibrosus* по белкам эндосперма в пределах азиатской части России можно охарактеризовать как невысокую.

Моделирование интрогрессивных процессов между *E. caninus* и *E. fibrosus*. Изучали возможность интрогрессии между *E. caninus* и *E. fibrosus* в эксперименте с контролем всех этапов половой репродукции гибридов путем морфологического и электрофоретического анализа поколений F_1 – F_5 .

Гибридизацию проводили в трех комбинациях: между алтайским *E. caninus* BSK-9302 и скандинавским *E. fibrosus* H 10339 в прямом и реципрокном вариантах гибридизации, а так же между алтайскими образцами *E. caninus* BEL-9308 х *E. fibrosus* BSK-9302. Гибриды F_1 между алтайским *E. caninus* и скандинавским *E. fibrosus* в двух комбинациях скрещивания были абсолютно стерильны. Дальнейшие результаты приведены по гибридам между алтайскими образцами. Общая схема изучения в поколениях показана на рис. 1. Зерновки шведского образца *E. caninus* var. *muticus* H 3928 также включались в сравнительный анализ в качестве идентифицированного спонтанного опылителя.

Электрофоретически было изучено три линии нисходящих поколений от растений 3, 6 и 7. Анализ показал, что все три растения были спонтанно опылены донором пыльцы H 3928 при открытом цветении растения F_1 . Такого рода дополнительные скрещивания привносят в зиготу сбалансированный набор хромосом, что способствует нормализации мейоза и стабилизации семенной репродукции растений F_3 . Во всех проанализированных выборках присутствовали компоненты материнского растения BEL-9308 и спонтанного опылителя H 3928. Только несколько компонентов *E. fibrosus* BSK-9302 было обнаружено в спектре зерновки F_2 (IV) и нескольких зерновок выборок N, A, G, H, I, J, и K. Можно предположить, что генетические системы, контролирующие синтез белков родительской формы BSK-9302, элиминировались по закономерным причинам естественного отбора.

Полученные экспериментальные данные согласуются с системой РГП—ИГП (Агафонов, 2004), где было показано, что *E. fibrosus* и *E. caninus* в пределах Северной Евразии образуют два близких РГП, при этом названные виды можно отнести к единому интрогрессивному генпулу — ИГП. Показано, что обязательным условием интрогрессии между названными видами может быть не только возвратное, но и нормализующее

скрещивание, одно или несколько. Стабилизация СФ у форм, имеющих интрогрессивное происхождение между названными видами, происходит уже к поколению F₄.

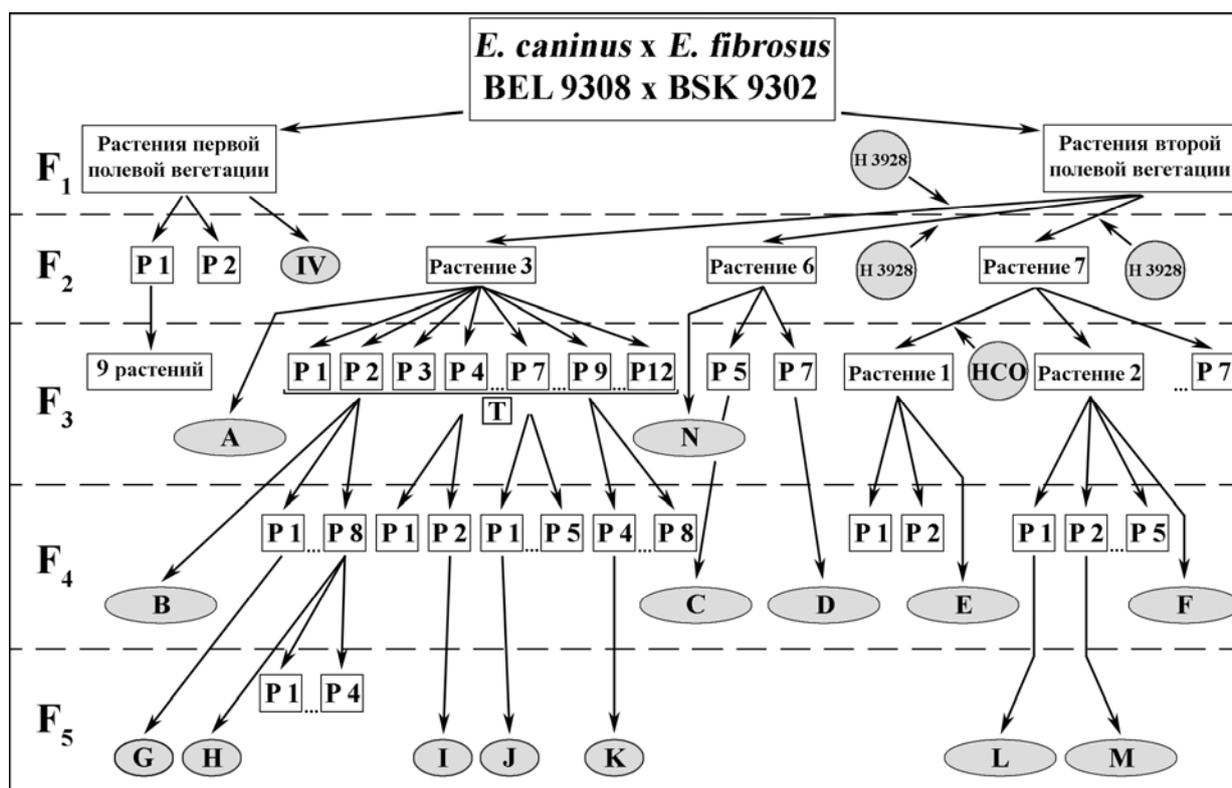


Рис. 1. Схема электрофоретического и морфологического анализа межвидового гибрида BEL-9308 x BSK-9302. HCO – неидентифицированный спонтанный опылитель. В квадраты помещены растения, буквами в овалах отмечены выборки семян, проанализированные электрофоретически.

ГЛАВА 4. МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПРОЦЕССОВ МЕЖДУ *E. CANINUS* И *E. MUTABILIS* И ИХ РЕГИСТРАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ SDS-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ ЭНДОСПЕРМА

Типичные формы видов *E. caninus* и *E. mutabilis* имеют достаточно четкие морфологические различия по величине колосковых чешуй (КЧ), длине остей и опушенности НЦЧ. У *E. mutabilis* КЧ немного короче прилегающей НЦЧ, по краю пленчатые, НЦЧ шероховатые или коротковолосистые с остью 5-6 мм дл. Для *E. caninus* характерны гладкие или редко-шиповатые НЦЧ с прямой остью равной или длиннее чешуи. Тем не менее, в природных популяциях встречаются промежуточные и переходные формы по некоторым диагностическим признакам. У обоих видов значительно варьирует признак относительной длины КЧ, у ряда биотипов *E. caninus* обнаруживаются шиповатые или волосистые НЦЧ, а также короткоостые формы. У некоторых биотипов *E. mutabilis* отмечены абсолютно гладкие НЦЧ и удлиненные ости. В Северной Европе весьма распространена короткоостая или безостая форма, выделяемая в особую разновидность *E. caninus* var. *muticus* (Holmb.) Karlsson. У этой разновидности отсутствуют ости НЦЧ, и это вызывало много споров о таксономическом положении.

Электрофоретический анализ происхождения таксона *E. caninus* var. *muticus*. Различия между скандинавскими *E. fibrosus*, *E. caninus* var. *muticus*, *E. caninus* и *E. mutabilis* изучали методом SDS-электрофореза белков эндосперма. Ре-

зультаты показали, что *E. mutabilis* из Скандинавии имеет довольно низкую изменчивость по белкам эндосперма. По части полипептидов разновидность *E. caninus* var. *muticus* близка к виду *E. caninus*. Наряду с этим нами были обнаружены общие по ОЭП компоненты у *E. caninus* var. *muticus* и *E. mutabilis*. Этот факт косвенно указывает на то, что форма *E. caninus* var. *muticus* в Скандинавии, вероятнее всего, является результатом интрогрессии между *E. caninus* и *E. mutabilis*.

Анализ гибридов между скандинавскими биотипами *E. caninus* var. *muticus*, *E. caninus* s. str. и *E. mutabilis* в поколениях. Для проверки уровня репродуктивной совместимости скандинавских образцов был получен гибрид между биотипами *E. caninus* var. *muticus* Н 3928 x *E. caninus* Н 10427. Материнский биотип Н 3928 обладал ярко окрашенными влагалищно-пластинчатыми сочленениями (ВПС), а особенностью отцовского биотипа Н 10427 было нетипичное для вида опущение листовых влагалищ (ЛВ). У гибридных растений F₁ было отмечено некоторое снижение величины СФ до 23.5 %, что свидетельствует о достаточно высокой совместимости родительских биотипов.

Анализ морфологических признаков у выборки из 21 растения поколения F₂ показал, что выборка отчетливо делилась на дискретные фенотипические классы. Величины СФ у растений варьировали от 6.4 до 87.0 % при двух абсолютно стерильных особях. По результатам анализа расщепления признаков в выборке сделаны следующие выводы и предположения:

1. Признаки длины остей НЦЧ, окраски ВПС и опушенности ЛВ в данной комбинации скрещивания отчетливо дискретны и наследственно детерминированы;
2. Вероятнее всего, признаки контролируются альтернативными аллелями 1–2 локусов с неполным доминированием;
3. Биотипы *E. caninus* s. str. и *E. caninus* var. *muticus* филогенетически близки и репродуктивно совместимы на $\alpha 2$ -уровне.

Гипотезу о происхождении *E. caninus* var. *muticus* в Скандинавии путем интрогрессии признака коротких остей НЦЧ от *E. mutabilis* проверяли на двух половых гибридах между финскими биотипами *E. mutabilis* Н 10340 и *E. caninus* Н 10338, родительские особи которых были собраны в пределах одной смешанной популяции. Половая совместимость между биотипами была на $\alpha 2$ -уровне. Морфологические признаки показали значительное варьирование. Этот пример, на наш взгляд, убедительно иллюстрирует, что гибридизация является одним из путей формообразования и микроэволюции видов. В более узком значении полученные данные подтверждают возможность происхождения в Скандинавии таксона *E. caninus* var. *muticus* путем ограниченной рекомбинации или интрогрессивной гибридизации между *E. mutabilis* и *E. caninus*.

Электрофоретический и гибридологический анализы происхождения сибирских морфологически отклоняющихся форм *E. caninus* и *E. mutabilis*. На примере гибрида SON-9904 x TUV-9936 изучалась способность к генетической рекомбинации между двумя сибирскими морфологически отклоняющимися формами (МОФ). Родительские биотипы сочетали в себе признаки *E. mutabilis* и *E. caninus*. Растения TUV-9936 обладали более рыхлым и тонким колосом, опушенными ЛП и гладкими НЦЧ с остями до 4 мм. Растения образца SON-9904 имели голые ЛП и длинно-шиповатые НЦЧ с остями до 12 мм. Гибридные растения F₁ были промежу-

точными по всем вышеназванным признакам и обладали нормальной СФ (до 55.6 %).

Электрофоретический анализ белков эндосперма родительских биотипов SON-9904 и TUV-9936 и гибридных семян показал, что в поколении F₂ наблюдалась свободная рекомбинация белковых компонентов, характерных для обоих родителей. Вместе с данными о высокой фертильности гибридных растений это свидетельствует о принадлежности родительских биотипов к единому РГП. Морфологический анализ выборки 82 растений поколения F₂, показал расщепление по признакам опушенности ЛП, плотности колоса, остистости и опушенности НЦЧ. По этим признакам гибриды поколения F₂ могут быть отнесены как к типичным формам *E. mutabilis* s. str. или *E. caninus* s. str., так и к форме *E. caninus* var. *muticus*. Наблюдаемое расщепление по двум признакам (длина остей НЦЧ и опушенность НЦЧ) проверяли по критерию χ^2 (таблица), который показал, что каждый из морфологических признаков наследуется по моногенному типу с неполным доминированием.

Таблица. Менделевское расщепление в поколении F₂ гибрида SON-9904 x TUV-9936 по признакам опушенности НЦЧ (слева) и длины остей НЦЧ (справа): “густоволосистые (ГВ) – шиповатые (ШИП) – гладкие (ГЛ)”.

Опушенность НЦЧ Моногенное наследование 1:2:1				Длина остей НЦЧ Моногенное наследование 1:2:1			
Фенотип НЦЧ	Набл. число особей	Ожид. число особей	χ^2 , P	Фенотип НЦЧ	Набл. число особей	Ожид. число особей	χ^2 , P
ГВ	19	20.5	$\chi^2 = 0.2194$ P>0.99	10–12 мм	16	20.5	$\chi^2 = 3.145$ 0.50>P>0.20
ШИП	41	41		5–9 мм	49	41	
ГЛ	22	20.5		до 4 мм	17	20.5	

В комбинации скрещивания ALP-9734 x BEL-9308 использовали МОФ *E. caninus*. Растения отцовского биотипа BEL-9308 обладали волосистыми НЦЧ. По величине СФ гибридные растения F₁ показали половую совместимость родителей на $\alpha 1$ -уровне. В выборке из 77 растений F₂ изучали характер наследования двух важных диагностических признаков “опушенность НЦЧ” и “длина остей НЦЧ”. Результаты применения критерия χ^2 при анализе расщепления по признакам “длинные – короткие ости НЦЧ” не противоречат гипотезе о его моногенном наследовании, хотя и находятся близко от граничного значения вероятности P=0.05, ниже которого гипотеза отвергается. Для альтернативной пары признаков “волосистые – голые НЦЧ” гипотеза моногенного наследования подтвердилась с высокой вероятностью P>0.8. Близко к пределу допустимой вероятности подтвердилась гипотеза о независимом наследовании двух пар признаков.

Полученные данные свидетельствуют о том, что *E. caninus* var. *muticus* имеет полифилетическое происхождение. В Скандинавии таксон, вероятнее всего, происходит от *E. caninus* и *E. mutabilis*. Сибирские МОФ *E. caninus*, некоторые, из которых могут быть причислены к разновидности *muticus*, также происходят от *E. caninus* и *E. mutabilis* (Герус, Агафонов, 2006), но при этом не исключена возможность происхождения других неидентифицированных природных образцов и популяций путем взаимной генетической интрогрессии между *E. caninus* и *E. fibrosus* (Gerus, Agafonov, 2005).

Моделирование интрогрессивных процессов между *E. caninus* и *E. mutabilis*.

Для проверки гипотезы о протекании процессов интрогрессивной гибридизации были созданы два искусственных межвидовых гибрида, образованные горно-алтайскими биотипами. Единственное растение F_1 гибрида *E. caninus* GAT-9210 x *E. mutabilis* АСН-8932 обладало пониженной, но достаточно стабильной СФ (до 6.6 %). Выборка 17 растений F_2 показала вариабельность по следующим признакам в разном их сочетании: наклон колосьев, относительная длина КЧ ($k=L_{КЧ}/L_{НЦЧ}$), шиповатость НЦЧ, длина остей НЦЧ. Значения СФ у 10 растений распределялись в пределах от 0.005 (1 зерн./3 кол.) до 72.0 %. Проведенные электрофоретические анализы белков эндосперма у выборок поколения F_2 – F_3 показали, что изученные выборки поколения F_3 имели невысокую гетерозиготность. Однако часть зерновок была образована в результате спонтанного опыления растений F_2 , пыльцой других растений-доноров, это подтверждалось наличием у некоторых зерновок поколения F_3 полипептидов, не обнаруженных у родительских биотипов. Вероятнее всего, меньшая часть растений данной гибридной комбинации пошла по интрогрессивному пути с обязательным возвратным или нормализующим скрещиванием, другая же часть пошла по пути рекомбинации.

Изучали процесс рекомбинации между двумя алтайскими МОФ *E. caninus* GAC-8921 и *E. mutabilis* АСН-8905. Растения *E. mutabilis* АСН-8905 имели абсолютно голые и гладкие НЦЧ, в то время как типичные особи этого вида обладают шероховатыми или коротковолосистыми НЦЧ. Образец *E. caninus* GAC-8921, наоборот, имел густошиповатые НЦЧ.

Анализ СФ, данные морфологического и электрофоретического анализов белков эндосперма показали, что комбинация скрещивания между двумя МОФ GAC-8921 x АСН-8905 развивалась в поколениях по смешанному типу. У части электрофоретически изученных зерновок были отмечены компоненты посторонних доноров пыльцы, т.е. неидентифицированных спонтанных опылителей (НСО). Эти линии поколений развивались и стабилизировались по интрогрессивному типу. Вместе с тем, во всех поколениях электрофоретически выявлялись зерновки, содержащие только компоненты родительских биотипов. Это означает, что в данной гибридной комбинации возможна ограниченная рекомбинация генетического материала с последующей стабилизацией жизнеспособности и семенной фертильности. Однако, более вероятным путем стабилизации фертильности гибридов между *E. caninus* и *E. mutabilis* в природных популяциях представляется интрогрессивная гибридизация (Герус, Агафонов, 2004; Герус, 2007).

ГЛАВА 5. СВИДЕТЕЛЬСТВА МЕЖВИДОВОЙ ИНТРОГРЕССИИ В СМЕШАННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *E. KOMAROVII*, *E. TRANSBAICALENSIS* И МОРФОЛОГИЧЕСКИ БЛИЗКИХ ВИДОВ *E. SAJANENSIS* И *E. KRONOKENSIS*

Общая и сравнительная характеристика *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis*. В Сибири *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis* часто произрастают в близких экотопах и даже в составе смешанных популяций (рис. 2). Наиболее обособлен *E. kronokensis*, основным его отличием являются

голые и гладкие НЦЧ и мелкошиповатые членики колосковой оси (ЧКО). В целом, виды *E. sajanensis* и *E. kronokensis* отличаются от *E. komarovii* по совокупности признаков, ости НЦЧ короче, чем сама цветковая чешуя, а соотношение длин колосковой и цветковой чешуи несколько меньше ($k=0.5-0.7$). От *E. transbaicalensis* отличия гораздо менее заметны, поскольку широкая экологическая амплитуда последнего вида определяет и широкий размах морфологической изменчивости. В главе подробно приводятся таксономия, синонимика, морфологические признаки, а также литературные данные по молекулярно-генетическим исследованиям названных видов.

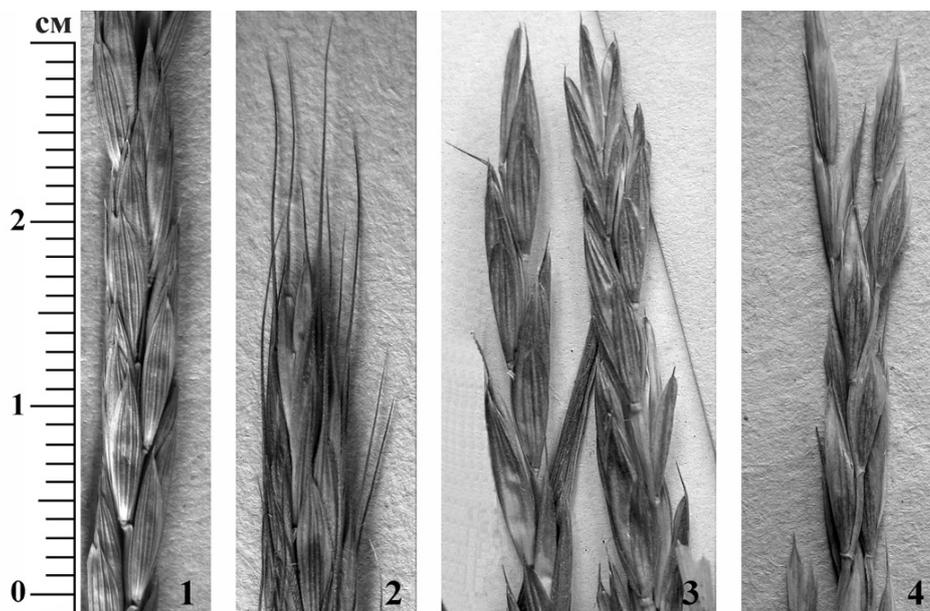


Рис. 2. Фрагменты колосьев типов: **1.** *E. transbaicalensis* (“Верхн. Ангара, плес Химиуа, песчаный берег, 2 VII 1912, н° 534, В. Сукачев и Г. Поплавская”), **2.** *E. komarovii* (“Саянские горы, долина р. Хорок, 13 VIII 1902, В. Комаров”), **3.** *E. sajanensis* (“Тункинский р-н, Гарганский перевал, 31 VII 1902, В. Комаров”), **4.** *E. kronokensis* (“Кроноцкий перевал, сухие тундры в альпийской зоне, 10 VIII 1909, В. Комаров”).

Изменчивость *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. “kronokensis”* в пределах Горного Алтая. Два наиболее старых метода изучения интрогрессии (метод гибридных индексов и многомерные диаграммы разброса) основаны на измерении количественных признаков. Получающиеся при этом графики дают наглядное представление о том, что происходит в интрогрессивных популяциях. С развитием компьютерных программ появилась возможность усовершенствовать данные методы, однако, все эти усовершенствования коснулись лишь способов математической обработки и графического выражения обчислений морфологических признаков.

Для изучения морфологической изменчивости у видов в трех близко расположенных смешанных популяциях строили трехмерные диаграммы по трем диагностическим признакам (длина остей НЦЧ, выраженность мембран КЧ и соотношение длины КЧ к длине НЦЧ — $k=L_{КЧ}/L_{НЦЧ}$). Распределение признаков показало, что наряду с особями, соответствующими диагнозам *E. komarovii*, *E. transbaicalensis* и *E. sajanensis*, в популяциях присутствуют растения с промежуточными значениями и разными сочетаниями признаков, в том числе особи, соответствующие диагнозу *E. kronokensis*. Результаты построения диаграмм продемонстрировали их невысокую

эффективность в целях выявления единичных актов интрогрессии вследствие высокого влияния внешней среды на количественные признаки, в том числе диагностические. По нашему мнению, за *E. kronokensis*, описанный с Камчатки, в Сибири ошибочно принимают морфологические формы других видов (*E. transbaicalensis* и *E. sajanensis*), обладающие гладкими НЦЧ и короткошиповатыми ЧКО.

Анализировали полиморфизм этих популяций по запасным белкам эндосперма. Результаты показали, что по полипептидам данные популяции были менее изменчивы, чем по морфологическим признакам. Так, 22 образца из первой популяции обладали легко различимыми несколькими типами спектров, тогда как на диаграмме трудно было различить хотя бы одну хорошо обособившуюся группу особей.

Проведенное электрофоретическое изучение изменчивости в выборках семян природных образцов *E. komarovii*, *E. transbaicalensis* и *E. sajanensis* при совместном произрастании в прерывистой алтайской популяции Актру-4 на протяжении 20 км вдоль ущелья р. Актру, показало, что каждый вид в данном местонахождении обладает достаточно специфичным спектром. Тем не менее, наличие у некоторых особей разных видов общих компонентов свидетельствует о том, что в изученных популяциях Горного Алтая проходят интрогрессивные процессы. В результате появляются не только морфологически отклоняющиеся и промежуточные формы, но и “скрытые рекомбинанты”, генотипы которых содержат наследственный материал других видов, не проявляющийся на уровне морфологии.

Изменчивость *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis* в пределах Бурятской части Восточного Саяна. В течение проведенных полевых исследований было отмечено, что в смешанных популяциях особи *E. transbaicalensis* значительно преобладают по численности. При этом у особей этого вида наблюдается изменчивость по ряду признаков. Особи с признаками *E. komarovii* представлены единичными экземплярами. Кроме того, в популяциях присутствуют формы с промежуточной длиной остей НЦЧ. Несколько собранных особей могут быть причислены к *E. kronokensis* по признаку голых и гладких НЦЧ. Но на текущий момент это название для сибирских образцов, как отмечалось ранее, носит формальный характер. Наиболее сложным для идентификации представляется *E. sajanensis*. Основная проблема заключается в том, что особи *E. transbaicalensis*, произрастающие в относительно неблагоприятных условиях высокогорий, приобретают черты, характерные для *E. sajanensis*. В таких условиях колосья укорачиваются, а вместе с ними уменьшается соотношение длин колосковых и цветковых чешуй. В этих случаях биотипы *E. transbaicalensis*, обладающие широкими краевыми мембранами на КЧ, трудно отличить от локальных форм *E. sajanensis*.

Электрофоретическая изменчивость по запасным белкам эндосперма. Анализировали образцы *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis*, *E. “kronokensis”* и некоторые МОФ из трех смешанных популяций. Результаты показали, что виды обладали определенными чертами специфичности спектров. Характерные различия были особенно заметны на уровне ОЭП, соответствующем расположению высокомолекулярных субъединиц (ВМС) 18–23 ед. ОЭП. Однако также отчетливо можно увидеть, что в смешанных популяциях у разных видов обнаруживаются общие компоненты (рис. 3).

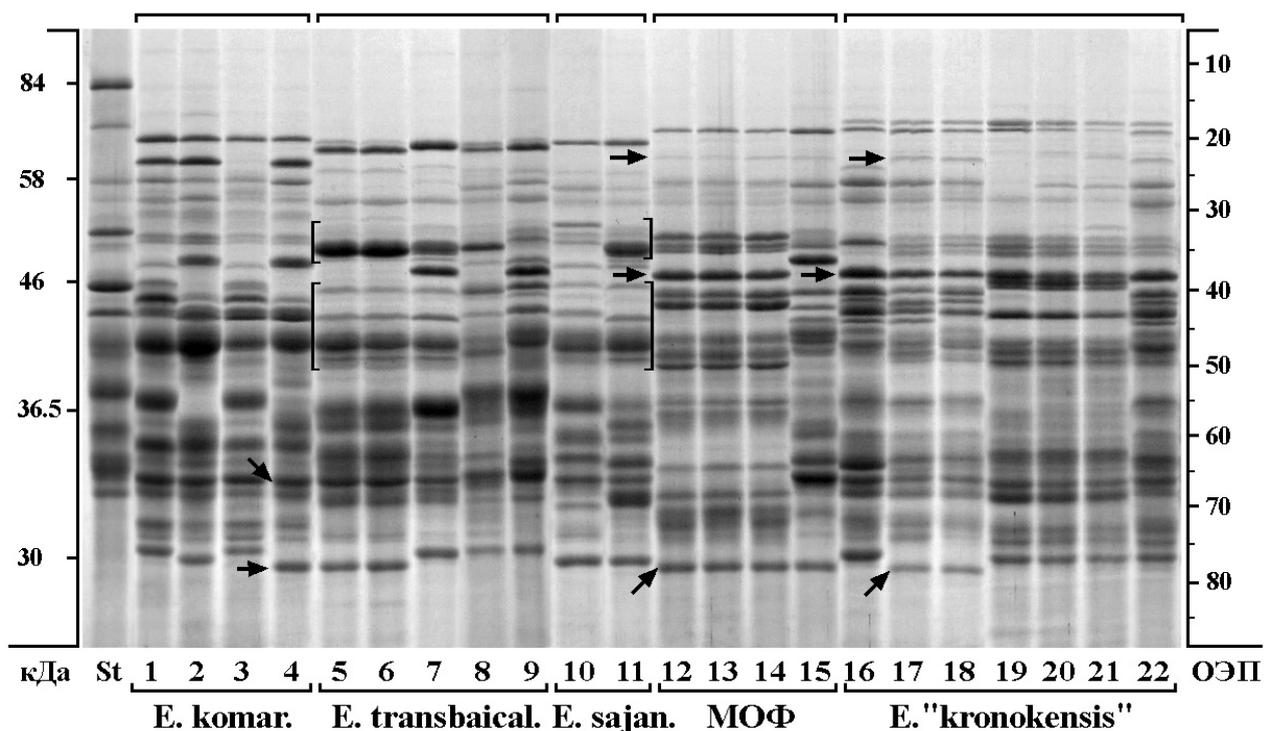


Рис. 3. SDS-электрофореграмма запасных белков эндосперма *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis*, *E. "kronokensis"* и морфологически отклоняющихся форм (МОФ) из Восточного Саяна. Вариант +Me. Стрелками и скобками показаны группы компонентов, совпадающие у разных таксонов по величине ОЭП.

Анализ спектров *E. transbaicalensis* из семи популяций Восточного Саяна показал, что сходство и совпадение по компонентам можно обнаружить лишь у близко расположенных или внутри одноименных популяций.

Для оценки межвидовой дифференциации изучаемых четырех видов в электрофоретический опыт были взяты выборочные образцы из Восточного Саяна, Горного Алтая, а также один образец *E. kronokensis* KES-9603 с п-ова Камчатка. Было обнаружено несомненное сходство между выборочными образцами *E. komarovii* из разных регионов. Можно сделать вывод о несомненной самостоятельности этого обособленного и хорошо различимого вида в пределах широкого ареала в Западной и Средней Сибири. Однако более многочисленные популяции вида и, вероятно, центр его генетического разнообразия находятся на территории Алтайской горной страны. Относительно каждого из трех других видов, охваченных в данном исследовании двумя регионами Сибири, сколько-нибудь отчетливого совпадения по компонентам спектров отмечено не было. Это означает, что эти виды значительно дифференцированы пространственно, по морфологическим признакам и в значительной мере генетически.

Изменчивость *E. transbaicalensis*, *E. komarovii*, *E. sajanensis*, *E. kronokensis* и некоторых МОФ по гистону H1. По результатам изучения изменчивости по гистону H1 у 72 природных образцов был выявлен гораздо меньший аллелизм, чем по белкам запасного ряда, и это дало возможность оценить взаимоотношения внутри комплекса таксонов не только в пределах популяций, но и на значительной части ареалов. Большинство образцов *E. transbaicalensis* из Горного Алтая были идентичны между собой и совпадали по составу субфракций с образцами, несущими признаки *E. kronokensis*, и

некоторыми МОФ. Образцы, которые могут быть идентифицированы как *E. "kronokensis"*, на Алтае обычно представляют собой одну из МОФ *E. transbaicalensis* с голыми и гладкими НЦЧ. Вероятно, гетерогенная популяция TAL-2, обнаруженная на Южно-Чуйском хребте Горного Алтая, образует особый таксон (рис. 4). Восточно-саянские образцы *E. transbaicalensis* из двух популяций также были полностью идентичны. Однако проанализированные образцы *E. komarovii* из нескольких горно-алтайских популяций показали более высокий уровень полиморфизма по гистону Н1 в сравнении с образцами из Восточного Саяна. Изученные образцы *E. sajanensis* и *E. "kronokensis"* из этих же саянских популяций не отличались между собой по субфракциям гистона Н1.

Репродуктивные свойства гибридов между *E. komarovii* и *E. transbaicalensis*.

Для выяснения возможности протекания интрогрессивных процессов между видами *E. transbaicalensis* и *E. komarovii* нами были получены гибридные комбинации с участием горно-алтайских родительских биотипов: *E. transbaicalensis* AUK-9810 x *E. komarovii* ATU-9935 и F₁ [*E. transbaicalensis* AUK-9810 x *E. komarovii* ATU-9935] x *E. komarovii* AUK-9803. Исходя из данных по морфологическим признакам, СФ и электрофоретическим спектрам выборок в поколениях данных гибридных комбинаций, можно сделать вывод, что у данного межвидового гибрида проходила ограниченная **рекомбинация** генетического материала, а не **интрогрессия** с обязательным возвратным или нормализующим скрещиванием.

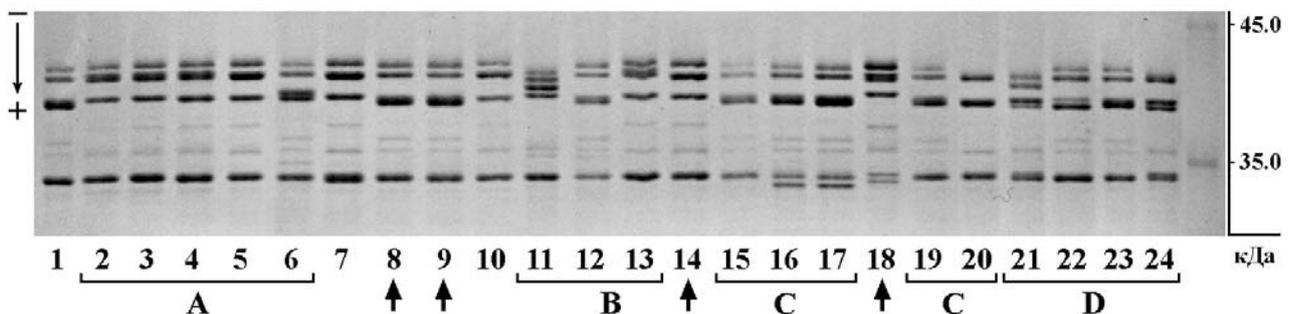


Рис. 4. Изменчивость гистона Н1 у видов *Elymus*, выявляемая в SDS-системе ПААГ электрофореза. Стрелками отмечены разные МОФ.

1. *E. "kronokensis"* (Горный Алтай); 7. *E. "kronokensis"* (Восточный Саян); 8-9. МОФ *E. kronokensis* (Якутия); 10. *E. kronokensis* (Камчатка); А — гетерогенная популяция TAL-2 (Горный Алтай), образованная морфотипами *E. "kronokensis"* (2-3) и *E. "sajanensis"* (4-6). В — *E. sajanensis* (11, 12) и МОФ *E. sajanensis* (13, 14) из Горного Алтая. С — *E. transbaicalensis* (15-17) и МОФ *E. transbaicalensis* (18-20) из Горного Алтая; D — *E. komarovii* (21-23 из Горного Алтая и 24 из респ. Тува).

На основании всего вышеизложенного нами было проведено уточнение существующей модели РГП—ИГП в части, относящейся к изученным таксонам (рис. 5). 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., 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 сообщение о получении аналогичных морфотипов в результате гибридизации остистой алтайской формы *E. transbaicalensis* и скандинавского биотипа *Elymus alakanus* subsp. *scandicus* (Nevski) Meld. (= *Elymus kronokensis* subsp. *scandicus* (Nevski) Tzvel.) (Агафонов, 1997).

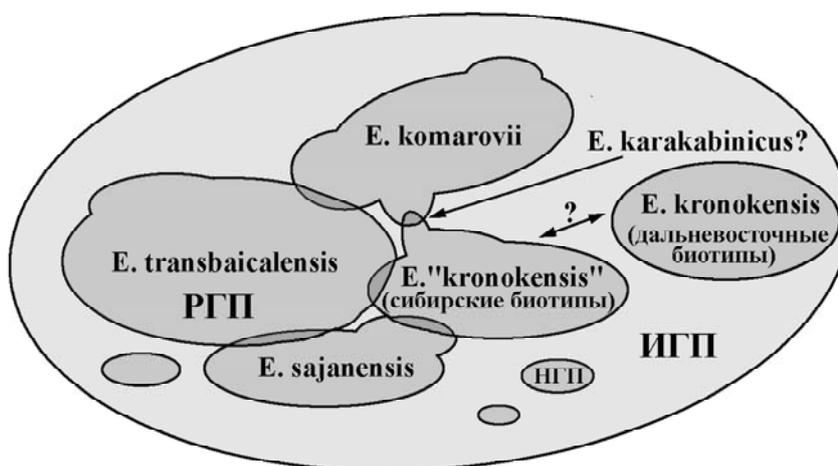


Рис. 5. Фрагмент уточненной модели генпулов StH-геномных видов *Elymus*. РГП — рекомбинационный генпул; ИГП — интрогрессивный генпул; НГП — неидентифицированные генпулы.

Показанные на рис. 5 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 России и в настоящее время проходит биосистематическую проработку.

ВЫВОДЫ

1. В азиатской части России *E. fibrosus* характеризуется невысокой степенью изменчивости по запасным белкам эндосперма. Уровень сходства между типичными представителями видов *E. fibrosus* и *E. caninus* характеризуется как довольно низкий, это совпадает с достаточно четкими морфологическими отличиями между видами.
2. Между *E. caninus* и *E. fibrosus* возможна интрогрессивная гибридизация с обязательным возвратным или нормализующим скрещиванием, одним или несколькими, что согласуется с системой РГП—ИГП (Агафонов, 2004), где было показано, что *E. fibrosus* и *E. caninus* в пределах Северной Евразии образуют два близких РГП, при этом названные виды можно отнести к единому интрогрессивному генпулу — ИГП.
3. Таксон *E. caninus* var. *muticus* имеет полифилетическое происхождение. В Скандинавии он возник в результате интрогрессии между *E. caninus* и *E. mutabilis*. Сибирские МОФ, которые могут быть причислены к данной разновидности, являются результатом гибридизации *E. caninus* и *E. mutabilis*, но при этом не ис-

ключена возможность происхождения других неидентифицированных природных генотипов и популяций путем взаимной генетической интрогрессии между *E. caninus* и *E. fibrosus*.

4. Между *E. caninus* и *E. mutabilis* возможна ограниченная рекомбинация генетического материала или межвидовой интрогрессии. Эти два вида принадлежат двум близким РГП, образуя единый ИГП.
5. На территории Сибири протекают интрогрессивные процессы между филогенетически близкими видами *E. komarovii*, *E. transbaicalensis* и *E. sajanensis*. Вероятнее всего, сибирские формы, с признаками дальневосточного *E. kronokensis* в Восточном Саяне являются разновидностью *E. sajanensis*, а в Горном Алтае — разновидностью *E. transbaicalensis*.
6. У межвидовых гибридов *E. komarovii* x *E. transbaicalensis* возможна ограниченная **рекомбинация** генетического материала. Повышение семенной фертильности гибридов уже в поколении F_2 до величин, близких к нормальным, может являться важнейшим условием для выживания рекомбинантных генотипов при смене поколений в природе.
7. Детализирована модель РГП—ИГП для *E. komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. kronokensis*, включающая также ряд таксономически неидентифицированных локальных биотипов и популяций.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Изменчивость *Elymus fibrosus* (*Triticeae*: *Poaceae*) по полипептидным спектрам белков эндосперма, выявляемая SDS-электрофорезом, в сравнении с данными по *E. caninus* // Материалы 2 междунар. научно-практ. конф. "Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии". Барнаул: Изд-во "АзБука". 2003. С. 25–29.
2. Герус Д.Е. Экспериментальное исследование гибридного происхождения некоторых таксонов рода *Elymus* L. // Тезисы докладов II молодежной конференции "Исследования молодых ботаников Сибири". Новосибирск, 2004. С. 15.
3. Герус Д.Е. Электрофоретическое и гибридологическое исследование интрогрессивного происхождения таксона *E. caninus* var. *muticus* (*Triticeae*: *Poaceae*) на примере скандинавского и сибирского материала // Материалы VIII Молодежной конференции ботаников в Санкт-Петербурге. СПб.: СПГУТД, 2004. С. 242.
4. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Интрогрессивная гибридизация между *Elymus caninus* и *E. mutabilis* (*Poaceae*) и генетический анализ некоторых диагностических признаков // Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием "Проблемы сохранения разнообразия растительного покрова Внутренней Азии". Ч. 2. Улан-Удэ: Изд-во Бурятского научного центра СО РАН. 2004. С. 124–126.
5. Герус Д.Е. Перспективы развития биосистематики как эффективной методологии изучения биоразнообразия дикорастущих растений // Труды Третьей интеграционной междисциплинарной конференции молодых ученых СО РАН и высшей школы. Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН. 2005. С. 75–82.
6. Agafonov A.V., Gerus D.E., B. Salomon B. A biosystematic study of *Elymus charkeviczii*, *E. mutabilis* and *E. subfibrosus* from the peninsula Kamchatka // Abstr. 5th Int. *Triticeae* Symp. (June 6–10, 2005) Prague, Czech Republic. P. 4.
7. Gerus D.E., Agafonov A.V. Introgression between *Elymus caninus* and *E. fibrosus* as revealed by morphology and one-dimensional SDS-electrophoresis // Abstr. 5th Int. *Triticeae* Symp. (June 6–10, 2005) Prague, Czech Republic. P. 18.

8. Agafonov A.V., Gerus D.E., Salomon B. A biosystematic study of *Elymus charkeviczii*, *E. mutabilis* and *E. subfibrosus* from the peninsula Kamchatka // Czech J. Genet. Plant Breed. 2005. Vol. 41. P. 79–85.
9. Gerus D.E. Agafonov A.V. Introgression between *Elymus caninus* and *E. fibrosus* as revealed by morphology and one-dimensional SDS-electrophoresis // Czech J. Genet. Plant. Breed. 2005. Vol. 41. P. 74–78.
10. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Индукция интрогрессивных процессов между биотипами комплекса *Elymus macrourus* — *E. jacutensis* и *E. sibiricus* (*Poaceae*) // Материалы Всерос. конф. “Биоразнообразие и пространственная организация растительного мира Сибири, методы изучения и охраны” (25–27 сентября 2005 г., Новосибирск). Новосибирск, 2005. С. 34–36.
11. Герус Д.Е. Проблемы таксономии некоторых видов рода *Elymus* L. (*Poaceae*) в связи с интрогрессивной гибридизацией // Материалы I (IX) Международной конференции молодых ботаников в Санкт-Петербурге. СПб., 2006. С. 24.
12. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Биосистематический анализ происхождения некоторых таксонов и морфологически отклоняющихся форм, близких к *Elymus caninus* и *E. mutabilis* // Сиб. ботан. вестн.: электронный журнал. 2006. №1. Вып. 1. С. 67–76. <http://journal.csbg.ru>.
13. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Моделирование интрогрессивных процессов между *Elymus caninus* и *E. fibrosus* (*Poaceae*) и их регистрация с помощью одномерного SDS-электрофореза // Генетика. 2006. Т. 42. № 12. С. 1405–1413. (Реценз.)
14. Герус Д.Е. Моделирование и регистрация в эксперименте рекомбинационных процессов между *Elymus komarovii* и *E. transbaicalensis* // Перспективы развития и проблемы современной ботаники. Материалы I (III) Всероссийской молодежной научно-практической конференции ботаников в Новосибирске. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2007. С. 310–314.
15. Герус Д.Е. Регистрация рекомбинационных и интрогрессивных процессов между *Elymus caninus* и *E. mutabilis* (*Triticeae*: *Poaceae*) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. Материалы VI Международной научно-практической конференции. Барнаул: Изд-во “АзБука”. 2007. С. 314–315.
16. 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. 2007. Т. 2. Вып. 1. С. 17–25. <http://journal.csbg.ru>.
17. Герус Д.Е., Агафонов А.В. Белки эндосперма как маркеры межвидовой интрогрессии в смешанных популяциях *Elymus komarovii*, *E. transbaicalensis*, *E. sajanensis* и *E. “kronokensis”* (*Triticeae*: *Poaceae*) Восточного Саяна // Сиб. ботан. вестник: электронный журнал. 2007. Т. 2. Вып. 2. С. 33–42. <http://journal.csbg.ru>.