

УДК 582.542.1-57.087.1

## ИЗУЧЕНИЕ *STIPA UCRAINICA* И *STIPA ZALESSKII* (POACEAE) ИЗ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ISSR-АНАЛИЗОВ

Ю.О. Копылов-Гуськов, Т.Е. Крамина

В работе представлены результаты изучения ковыля украинского (*Stipa ucrainica*) и ковыля Залесского (*Stipa zaleskii*) с территории Ростовской обл. с помощью анализа морфологических признаков и ISSR-анализа. Данные, как одномерного и многомерного морфологических анализов, так и распределения ISSR-фрагментов, полученные при изучении растений из трех популяций *Stipa ucrainica* и четырех популяций *Stipa zaleskii*, свидетельствуют о высокой степени различия между видами, что позволяет принять одну из двух существующих точек зрения и говорить о независимости *Stipa ucrainica* и *Stipa zaleskii*.

**Ключевые слова:** *Stipa ucrainica*, *Stipa zaleskii*, ISSR, морфологический анализ, многомерные методы анализа.

Ковыли (*Stipa* L., Poaceae) – одна из важнейших групп, формирующих степные сообщества. Обычно это дерновинные травы. В степях Восточной Европы основную роль играют перистые ковыли. Несмотря на интенсивное изучение и разработку системы перистых ковылей на протяжении всего XX в. (Смирнов, 1928; Рожевиц, 1934; Клоков, Осычнюк, 1976; Цвелев, 1976; Martinovský, 1980), однако ревизии этой группы продолжают выходить до сих пор (Vázquez, Gutiérrez, 2011; Gonzalo et al., 2013).

В последние годы увеличилось число публикаций по материалам молекулярных исследований ковылей (Shan et al., 2006; Liu et al., 2009; Wagner et al., 2011, 2012; Hamasha et al., 2012; Durka et al. 2013). Однако у таких широко используемых методов молекулярной систематики как анализ последовательностей ядерной (ITS) и хлоропластной ДНК часто не хватает «разрешения», чтобы дать ответ на вопрос о взаимоотношении отдельных таксонов (Hamasha et al., 2012). С недавнего времени активное изучение ковылей идет на микроэволюционном уровне. Ряд таких исследований выполнен европейскими авторами. Например, генетическое разнообразие популяций *S. capillata* L. из Казахстана и Центральной Европы (Wagner et al., 2011), *S. pennata* L. из России, Украины, Румынии, Чехии и Германии (Wagner et al., 2012) и *S. pulcherrima* K.Koch от Центральной Европы до юго-запада России (Durka et al., 2013) изучены методом AFLP. Большинство этих работ показали высокий уровень генетического полиморфизма в центральной части ареала (европейская часть

России для *S. pennata* и *S. pulcherrima*) и снижение его к периферии, но у *S. capillata* полиморфизм был одинаково низким и в предполагаемом ядре ареала (Казахстане) и на его окраинах. Эти исследования, хотя и затрагивают ковыли, распространенные в границах бывшего СССР, но дают слабый охват российской территории и касаются лишь отдельных видов, ареалы которых простираются далеко за пределы России.

Ковыль украинский (*S. ucrainica* P.Smirn.) и ковыль Залесского (*S. zaleskii* Wilensky) распространены преимущественно в России и на Украине. Оба эти вида относятся к секции *Stipa* и вместе с *S. dasyphylla* (Lindem.) Trautv., *S. pontica* P. Smirn. и некоторыми другими мелкими видами образуют сложный комплекс, названный J.O. Martinovský (1980) группой родства *S. dasyphylla*. До сих пор молекулярно-генетическое изучение *S. zaleskii* проводилось только по единичным образцам методом филогенетического анализа по последовательностям ITS ядерной рибосомальной ДНК и участка 3'trnK хлоропластной ДНК с привлечением большого числа других видов *Stipa* и родственных родов (Hamasha et al., 2012). Изученный хлоропластный участок ДНК, а также объединенный набор ядерной и хлоропластной последовательностей не позволяют прояснить филогенетические взаимоотношения между ковылями секции *Stipa*, тогда как согласно Байесовскому дереву, построенному только по ITS, *S. zaleskii* группируется с *S. joannis* Celak., *S. tirsia* Stev., *S. rubens* P.Smirn. и *S. borysthenica* Klok. (там же); *S. ucrainica* попал в одну группу с *S. capillata*.

Ситуация осложняется и тем, что нет единой точки зрения по независимости и морфологическим признакам этих видов. Одни авторы считают их отдельными видами (Смирнов, 1928; Martinovský, 1980), другие (Цвелев, 1976, 2006; Буланый, 2008) включают *S. ucrainica* в состав *S. zaleskii* в качестве подвида. Для решения вопроса об их видовой самостоятельности необходим комплексный подход.

Межмикросателлитные (ISSR) маркеры высоко полиморфны и полезны для изучения генетического разнообразия, филогении и эволюционной биологии (Reddy et al. 2002). Они были использованы для выявления межвидовой гибридизации (Wolfe et al. 1998, Archibald et al. 2004; Kramina et al. 2012). ISSR-маркеры оказались удачным инструментом для изучения генетической структуры и дифференциации двух близких видов *Gentiana* (Zhang et al. 2007). Анализ изменчивости длин межмикросателлитных участков генома был успешно применен и для изучения генетического разнообразия у азиатских видов ковылей – *S. grandis* P. Smirn. (Shan et al., 2006) и *S. purpurea* Griseb. (Liu et al., 2009).

Цель настоящей работы – выяснение взаимоотношений *Stipa ucrainica* и *Stipa zaleskii* на юге европейской части России с привлечением как морфологических, так и молекулярных (ISSR-маркерирование) методов.

### Материалы и методы

Анализ морфологических закономерностей мы проводили, опираясь на собранные нами в 2009–2011 гг. в 7 локалитетах Ростовской обл. 86 гербарных образцов изучаемых видов, включая три популяции *S. zaleskii* (43 образца) и четыре популяции *S. ucrainica* (43 образца; табл. 1). При определении растений мы старались обобщить информацию, приводимую в основных сводках по этой группе (Смирнов, 1928; Цвелев, 1976; Слюсаренко, 1977; Martinovský, 1980).

В ходе последующей лабораторной обработки мы отобрали для изучения пять признаков, которые наиболее часто упоминаются в литературных источниках в качестве диагностических:

- 1) длина нижней цветковой чешуи от кончика каллуса до основания ости (мм);
- 2) расстояние, на которое краевая полоска волосков не доходит до основания ости (мм);
- 3) опушение влагалищ листьев вегетативных побегов; в баллах (от 0 до 2): 0 – влагалища голые, 1 – имеются только реснички по краям влагалища и на язычке, 2 – влагалища целиком опушенные;

4) диаметр самого длинного листа вегетативного побега (мм);

5) число волосков на единицу длины абаксиальной стороны листовой пластинки (для удобства измерений за единицу длины мы выбрали величину 2,9 мм).

Помимо указанных мы также выбрали четыре дополнительных признака, которые не фигурируют в определительных ключах при различении указанных видов:

- 6) длина колонки (скрученного голого сегмента ости), мм;
- 7) длина сеты (нескрученного волосистого сегмента ости), мм;
- 8) отношение длины сеты к длине колонки;
- 9) длина язычка листьев вегетативных побегов.

Обработку данных проводили в программах STATISTICA 6.1 (Stat Soft Inc., 2003) и PAST (Hammer, 2001). Средние значения для двух изученных видов сравнивали по каждому признаку отдельно. Для признаков 1, 4–9 мы использовали t-критерий Стьюдента, для признаков 2 и 3 – U-критерий Манна–Уитни, реализованные в программе STATISTICA. Подобный выбор методов обусловлен тем, что признаки 2 и 3 имеют явно ненормальное распределение: признак 3 – балльный, а распределение признака 2 для *S. ucrainica* резко бимодальное. Для оценки степени разделения изучаемых видов по совокупности морфологических признаков мы применяли анализ главных координат по метрике Гауэра в программе PAST. Из-за того, что в 2011 г. на западе Ростовской обл. было очень мало цветущих ковылей, для многих растений мы смогли изучить только морфологические признаки вегетативной сферы, и они не были включены в анализ главных координат (табл. 1).

Часть гербарных образцов из каждой изученной популяции использовали для ISSR-анализа (табл. 1), выборка составила 23 образца *S. zaleskii* и 25 образцов *S. ucrainica*. Выделение ДНК проводили из высушенных листьев с помощью специализированного набора Nucleo Spin Plant II (Macherey Nagel GmbH, Германия) в соответствии с протоколом производителя.

В качестве праймеров для полимеразной цепной реакции (ПЦР) были использованы 5 олигонуклеотидных последовательностей, комплементарных микросателлитным повторам: HB12 [(CAC)<sub>8</sub>GC], HB13 [(GAG)<sub>8</sub>GC], M2 [(AC)<sub>8</sub>(C/T)G], M4 [(AG)<sub>8</sub>(C/T)C] и UBC868 [(GAA)<sub>6</sub>]. Праймеры выбирали по результатам предварительного анализа, отдавая предпочтение

Т а б л и ц а 1

## Изученные образцы

Номер популяции	Вид	Точка сбора	Число образцов для морфологического анализа [включены в анализ главных координат]	Число образцов для молекулярного анализа
S02	<i>Stipa ucrainica</i>	Ростовская обл., Мясниковский р-н, 3,5 км к северу от хутора Недвиговка (Чулеская балка), разнотравно-дерновинно-злаковая степь. N 47°18'15'' E 39°22'59'' 27.V 2009 и 10.VI 2011	11 [11]	6
S10	<i>Stipa ucrainica</i>	Ростовская обл., Заветинский р-н, 10 км на северо-восток от хутора Киселевка, типчаково-ковыльная степь на склоне северо-восточной экспозиции. N 47°22'31'' E 44°15'12'' 04.VI 2010	19 [19]	9
S17	<i>Stipa ucrainica</i>	Ростовская обл., Орловский р-н, 3,5 км к восток-северо-востоку от пос. Маныч, степной склон 3° южной экспозиции. N 46°26'40'' E 42°45'17'' 17.VI 2011	7 [0]	5
S18	<i>Stipa ucrainica</i>	Ростовская обл., Орловский р-н, 3,5 км к северо-северо-востоку от пос. Маныч, степной склон 1° южной экспозиции. N 47°27'37'' E 42°43'59'' 17.VI 2011	6 [6]	5
S01	<i>Stipa zaleskii</i>	Ростовская обл., Мясниковский р-н, 2 км к северо-востоку от хутора Недвиговка, разнотравно-дерновинно-злаковая степь. N 47°17'02'' E 39°22'54'' 09.VI 2011	23 [7]	8
S11	<i>Stipa zaleskii</i>	Ростовская обл., Куйбышевский р-н, 1,5 км к северу от пос. Лысогорка, разнотравно-типчаково-ковыльная степь на склоне восточной экспозиции. N 47°43'20'' E 39°12'33'' 11.VI 2010	14 [4]	9
S14	<i>Stipa zaleskii</i>	Ростовская обл., Родионово-Несветайский р-н, 3 км к западу от с. Персиановка, степной склон южной экспозиции 10° на правом берегу р. Тузлов. N 47°31'40'' E 39°23'19'' 11.VI 2011	6 [1]	6

тем, которые давали не менее трех полос при электрофорезе продуктов ПЦР. Отжиг праймеров HB12, HB13 проводили при  $t = 48,5^{\circ}\text{C}$ ; UBC868, M2 – при  $t = 50^{\circ}\text{C}$ ; M4 – при  $t = 52^{\circ}\text{C}$ . Реакционная смесь (20 мкл) содержала 10–20 нг ДНК, 20 пмоль праймера и

готовый реакционный мик МаGMix (200 мкМ каждого dNTP, 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1,5 ед. Taq-полимеразы и буфер, Диалат ЛТд, Россия). ПЦР реакцию с предварительной денатурацией (95°С – 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) (Крамина, Шанцер, 2010; Kramina et al., 2012).

Разделение продуктов ПЦР проводили с помощью электрофореза в 1,7%-м агарозном (Amresco) геле в 0,5-кратном трис-боратном буфере с окрашиванием бромидом этидия (0,5 мкг/мл) при 125 В и фотографировали цифровым фотоаппаратом. Полученные фотографии гелей анализировали в программе Cross Checker 2.91 (Buntjer, 2000). В результате анализа была получена бинарная матрица присутствия/отсутствия фрагментов одинаковой длины, которая и подвергалась дальнейшему анализу.

Мы подсчитали общее число фрагментов и проанализировали их распределение между изучаемыми видами, а кроме того, определили число полиморфных локусов как для выборки в целом, так и для каждого вида в отдельности (локус считали полиморфным, если его встречаемость находилась в интервале 5–95%). Выявлено также число диагностических маркеров, т.е. тех, которые встречаются у всех образцов одного вида и полностью отсутствуют у второго.

Для ординации образцов по степени их генетического родства в пространстве небольшой размерности был применен метод главных координат, реализованный в программе PAST (Hammer et al., 2001). В качестве меры генетического сходства образцов использовался коэффициент Жаккара (Крамина, Шанцер, 2010).

Анализ популяционной структуры проводили методом Байеса в программе Structure 2.3 (Pritchard, et al., 2000; Falush et al., 2007; Pritchard et al., 2009), которая оценивает вероятность разбиения выборки на  $K$  популяций на основании расчета частот аллелей в каждой из этих гипотетических популяций путем байесовского анализа методом марковских цепей Монте Карло. Анализ проводили с использованием модели генетического смешения (admixture) и скоррелированности частот аллелей в разных популяциях (Крамина, Шанцер, 2010). Предварительный выбор стартовой точки марковской цепи (burn in) проводили в течение 50 тыс. итераций, с последующим построением марковской цепи в течение 500 тыс. итераций для значения  $K$ , равного 1–7 в семи повторностях для каждой величины  $K$ . Истинную величину  $K$  оценивали как наименьшее значение, при котором график зависимости логарифма апостериорной вероятности от  $K$  достигает плато (Pritchard et al., 2009).

## Результаты

Попарное сравнение показало, что по всем «основным» признакам виды достоверно различаются ( $p$ -value < 0,01). Растения *S. zaleskii* по сравнению с *S. ucrainica* имеют более крупные нижние цветковые чешуи, краевая полоска волосков на которых в 90,3% случаев доходит до основания ости, если же не доходит, то не более чем на 1,5 мм (табл. 2). Помимо этого у *S. zaleskii* всегда опушены влагалища листьев вегетативных побегов, листья толще, и на них практически нет волосков с нижней (наружной) стороны. Мы также обнаружили достоверные отличия и по двум из четырех «дополнительных признаков». А именно, у *S. zaleskii* семя оказалась короче, чем у *S. ucrainica*, и длины сетки и колонки различаются слабее – соотношение длины сетки к длине колонки в среднем 2,56 против 3,29 у *S. ucrainica*. По длине колонки и длине язычков достоверных отличий между видами мы не обнаружили.

По результатам анализа главных координат 12 образцов *S. zaleskii* и 36 образцов *S. ucrainica* на плоскости первой и второй координат они образовали три хорошо разделенные группы: точки *S. zaleskii* образовали отдельную группу, а точки *S. ucrainica* распались на две группы (рис. 1). Причем, «нижняя» группа точек *S. ucrainica* образована исключительно образцами из популяции S10. Из рис. 1 видно, что точка образца S02-2 попадает в «верхнюю» группу точек *S. ucrainica*. Первая и вторая главные координаты описывают 43 и 17% разброса данных соответственно.

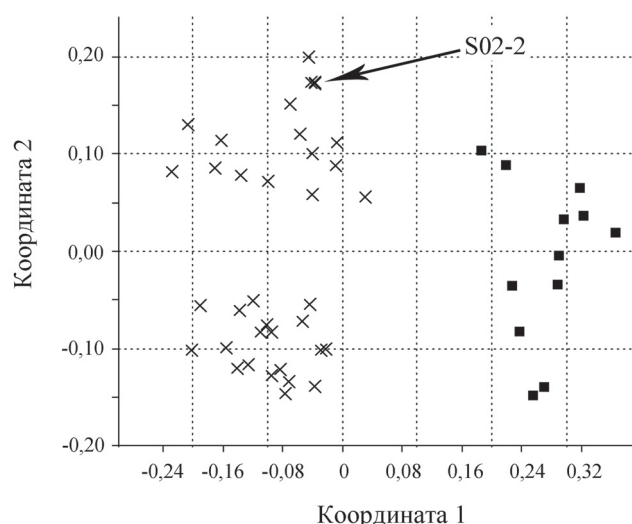


Рис. 1. Результаты анализа главных координат по девяти морфологическим признакам. × – *Stipa ucrainica*; ■ – *Stipa zaleskii*



Анализ главных координат, проведенный по общей матрице присутствия/отсутствия ISSR-маркеров, также показал, что виды хорошо разделяются (рис. 2). Первая и вторая главные координаты описывают 42 и 10% разброса данных соответственно. На рис. 2 один из образцов *S. ucrainica* (S02-2) расположен сильно в стороне от основных двух групп. Мы сочли этот образец выбросом и не включали в последующие анализы.

В общей сложности мы получили 58 различных ISSR-фрагментов, из которых полиморфизм проявили 34 (58,6%). Для *S. ucrainica* обнаружили 24 полиморфных локуса, для *S. zaleskii* – 19. Для обоих видов найдены диагностические маркеры: 3 для *S. ucrainica* и 4 для *S. zaleskii* (табл. 3). Обнаружен также один уникальный маркер для популяции S14. Это фрагмент длиной порядка 400 п.н., амплифицированный с праймера HB13.

Байесовский анализ, проведенный в программе Structure, показал, что с наибольшей вероятностью изучаемая выборка разбивается на 2, 3 и 5 групп

(рис. 3). При разбиении на две группы все образцы почти со стопроцентной апостериорной вероятностью относятся программой к двум определенным заранее видам (рис. 4). При разбиении на три группы образцы *S. zaleskii* демонстрируют генетическую однородность, а внутри *S. ucrainica* выделяются две группы, не связанные с популяционной принадлежностью. При разбиении на пять групп при различных запусках анализа были получены два варианта результатов: *S. zaleskii* либо был однороден, либо внутри него четко выделялась популяция S14. *S. ucrainica* всегда был разнородным. Истинную величину К оценивали как наименьшее значение, при котором график зависимости логарифма апостериорной вероятности от К достигает плато (Pritchard et al., 2009).

### Обсуждение

Полученные результаты по морфологическим признакам полностью соответствуют литературным данным о различиях *S. zaleskii* и *S. ucrainica* по изученным признакам на юге европейской части России

Таблица 2

Сравнение *S. ucrainica* и *S. zaleskii* по морфологическим признакам

Признак	<i>S. ucrainica</i>	<i>S. zaleskii</i>	Сравнение видовых средних по критерию Стьюдента (p-value)	Сравнение видовых средних по критерию Манна–Уитни (p-value)
Длина нижней цветковой чешуи, мм	13,9 ( <b>17,0</b> ± 1,2) 20,2	16,5 ( <b>19,5</b> ± 1,6) 22,7	0,0084	–
Краевая полоска волосков не доходит до основания ости, мм	0,0 ( <b>2,9</b> ± 1,6) 8,4	0 ( <b>0,1</b> ± 0,3) 1,5	–	0,000000
Опушение влагалищ листьев вегетативных побегов (баллы от 0 до 2)*	0 [0 : <b>0</b> : 0] 2	1 [1 : <b>1</b> : 2] 2	–	0,000000
Диаметр листовой пластинки, мм	0,36 ( <b>0,54</b> ± 0,10) 0,76	0,46 ( <b>0,76</b> ± 0,13) 1,12	0,000058	–
Число волосков на у.е. (2,9 мм) нижней стороны листа	0 ( <b>12,0</b> ± 6,0) 28	0 ( <b>0,1</b> ± 0,5) 8	0,000000	–
Длина колонки, мм	59 ( <b>76,1</b> ± 11,8) 97	60 ( <b>81,6</b> ± 10,7) 95	0,159	–
Длина сетки, мм	208 ( <b>247,7</b> ± 31,5) 330	161 ( <b>207,2</b> ± 35,6) 275	0,000523	–
Отношение длины сетки к длине колонки	2,65 ( <b>3,29</b> ± 0,37) 3,98	1,93 ( <b>2,56</b> ± 0,44) 3,57	0,000001	–
Длина язычка листьев вегетативных побегов	0,8 ( <b>1,43</b> ± 0,46) 3,0	0,8 ( <b>1,28</b> ± 0,29) 1,8	0,295	–

Примечание. Формат представления результатов: минимальное значение (**среднее арифметическое** ± стандартное отклонение среднего) максимальное значение.

\*Минимальное значение [нижняя квартиль : **медиана** : верхняя квартиль] максимальное значение.

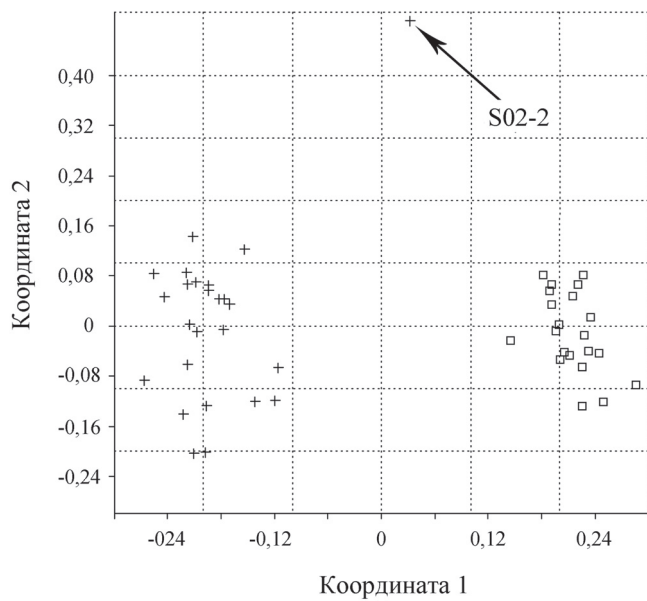


Рис. 2. Результаты анализа главных координат, проведенного по присутствию/отсутствию каждого из 58 ISSR-маркеров у изучаемых видов ковылей. + – *Stipa ucrainica*; □ – *Stipa zalesskii*

(Смирнов, 1928; Цвелев, 1976, 1986; Слюсаренко, 1977). Это демонстрируют методы как одномерного, так и многомерного анализа. Разделение *S. ucrainica* на две группы (рис. 1) может быть связано, на наш взгляд, с тем, что популяция S10, образовавшая «нижнюю» группу и отсутствующая в «верхней», расположена на юго-западе Ергенинской возвышенности, где экологические условия более аридные.

Представляют интерес признаки, которые не используются в определительных ключах, но по которым были обнаружены достоверные отличия между видами – длина сетки и соотношение длины сетки и колонки. Несмотря на то что исследуемая выборка невелика, получена она из региона перекрывания довольно широких ареалов исследуемых видов, а в подобных районах отличия между настоящими (даже близкими) видами часто усиливаются (Воронцов, 1968). С этим отчасти связано и то, что мы не включили в работу близкий к исследуемому виду *S. pontica*: достоверных данных о его произрастании в Ростовской обл. нет, а сравнивать *S. ucrainica* и *S. zalesskii* из Ростовской обл. с *S. pontica* из других регионов нам представилось нецелесообразным для настоящей работы.

Анализ главных координат по результатам исследования ISSR-маркеров также подтвердил различия между изучаемыми видами в Ростовской обл. Значительные отличия образца S02-2 от остальной выборки *S. ucrainica* связаны, как мы полагаем, с не-

удачным выделением ДНК из материала, так как по морфологическим признакам данный образец не выбивается из общей картины распределения (рис. 1). Таким образом, ISSR-анализ полностью подтвердил данные морфологического исследования.

Анализ распределения ISSR-фрагментов показал несколько более высокое генетическое однообразие *Stipa zalesskii* по сравнению с *S. ucrainica* для нашей выборки, что выражается в меньшем числе полиморфных маркеров и большем диагностических (табл. 3). Подобная картина может быть связана с довольно узкой территорией сбора материала (только Ростовская обл.). А так как ареал *S. zalesskii* доходит на востоке до юга Сибири, то распространять тезис о низкой генетической изменчивости *S. zalesskii* на весь вид нам представляется невозможным. Согласно методическим рекомендациям (Pritchard et al., 2009), оценкой истинного числа групп в нашей выборке следует считать  $K = 2$ , поэтому даже выделение в некоторых запусках байесовского анализа образцов из популяции S14 в отдельную группу мы полагаем проявлением большего генетического своеобразия этой популяции. С технической точки зрения это может быть связано с наличием у всех шести взятых для анализа образцов этой популяции одного уни-

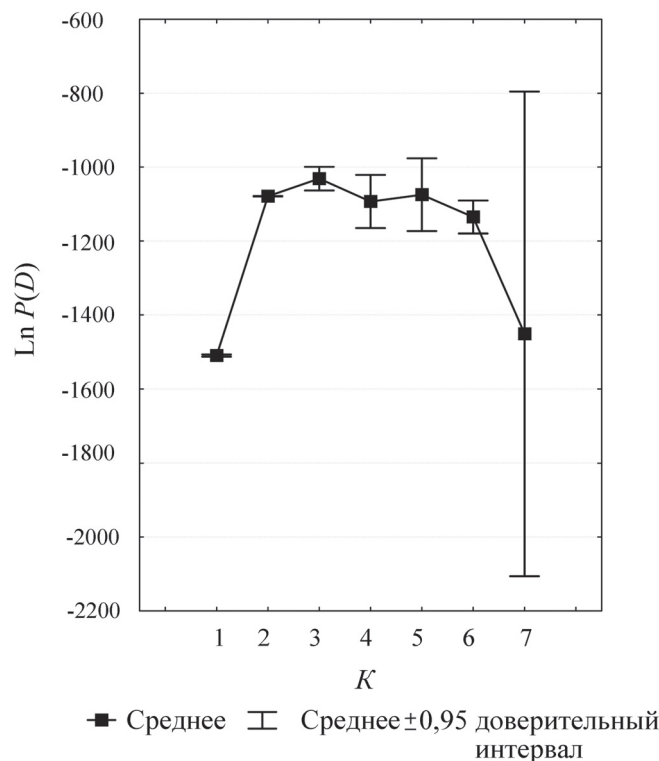


Рис. 3. График зависимости логарифма апостериорной вероятности разбиения выборки на  $K$  групп от числа таких групп

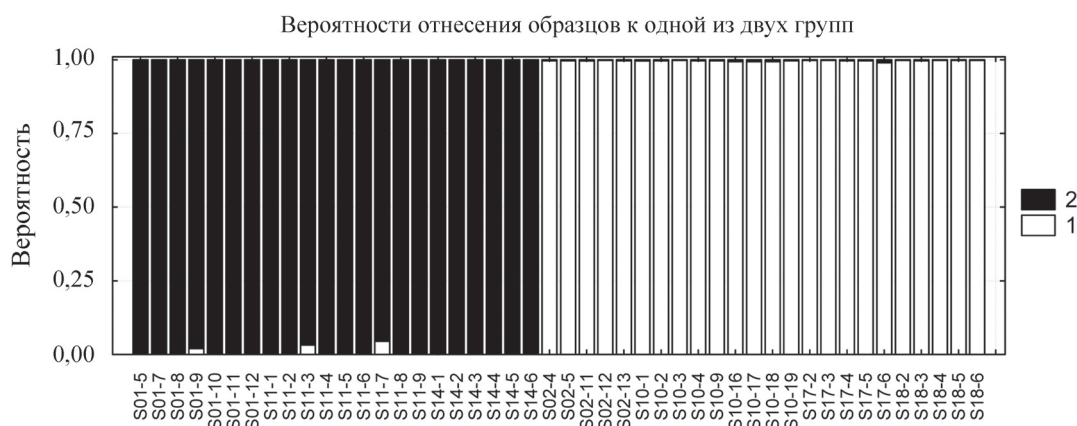


Рис. 4. Вероятность отнесения каждого образца к одной из двух предполагаемых групп по результатам байесовского анализа

Таблица 3

### Распределение ISSR-фрагментов

Общее число фрагментов	58	
Общее число полиморфных локусов (встречаемость > 5%)	34	
	<i>Stipa ucrainica</i>	<i>Stipa zaleskii</i>
Число полиморфных локусов (встречаемость > 5%)	24	19
Число диагностических маркеров	3	4

кального маркера (см. Результаты). Очевидно, что результаты байесовского анализа полностью согласуются с результатами морфологического анализа и анализа распределения ISSR-фрагментов.

Таким образом, комплексный подход с использованием морфологического, байесовского анализов и анализа распределения ISSR-фрагментов однознач-

но подтвердил различия между ковылем украинским (*Stipa ucrainica*) и ковылем Залесского (*Stipa zaleskii*) для территории Ростовской обл.

Авторы выражают благодарность О.Н. Деминой, П.А. Волковой, З.В. Гершельман и Д.Ф. Лыскову за помощь на полевом этапе исследования, а также М. Нобису за рецензирование и ценные замечания.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 14-04-01094 А.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буланый Ю.И. Флористические материалы и ключ для определения ковылей (*Stipa* L., Poaceae) Саратовской области // Вестн. Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова. 2008. № 8. С. 8–10.
- Воронцов Н.Н. Дивергенция близких видов на стыках их ареалов // Проблемы эволюции. Т. 1. Новосибирск, 1968. С. 202–207.
- Клоков М.В., Осычнюк В.В. Ковыли Украины // Новости систематики высших и низших растений. Киев, 1976. С. 7–92.
- Крамина Т.Е., Шанцер И.А. Анализ спонтанной гибридизации двух диплоидных видов *Lotus* (Fabaceae) в Волгоградской области // Бот. журн. 2010. Т. 95. № 6. С. 93–106.
- Рожевиц Р.Ю. Ковыль – *Stipa* L. // Флора СССР. Т. 2. Л., 1934. С. 79–112.
- Слюсаренко Л.П. *Stipa* – Ковыль // Злаки Украины. Киев, 1977. С. 405–424.
- Смирнов П.А. *Stipa* L. – Ковыль // Флора Юго-Востока европейской части СССР. Л., 1928. Вып. 2. С. 98–118.
- Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л., 1976. 788 с.
- Цвелев Н.Н. О ковылях (*Stipa* L., Gramineae) Украины // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1986. Т. 91 Вып. 1. С. 116–123.
- Цвелев Н.Н. Poaceae Barnhart (Gramineae Juss.) // Конспект флоры Кавказа. Т. 2. СПб., 2006. С. 248–378.
- Archibald J. K., Wolfe A. D., Johnson S. D. Hybridization and gene flow between a day- and night-flowering species of *Zaluzianskya* (Scrophulariaceae, tribe Manuleeae) / Amer. J. Bot. 2004. Vol. 91. N 9. P. 1333–1344.

- Buntjer J. B. Cross Checker: computer assisted scoring of genetic AFLP data // Plant and animal genome, VIII Conference. San Diego, CA, January 9–12, 2000.
- Durka W. et al. Extreme genetic depauperation and differentiation of both populations and species in Eurasian feather grasses (*Stipa*) // Plant Syst. Evol. 2013. Vol. 299. P. 259–269.
- Falush D., Stephens M., Pritchard J. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles // Mol. Ecol. Notes. 2007. Vol. 7. P. 574–578.
- Gonzalo R., Aedo C., García M. A. Taxonomic revision of the Eurasian *Stipa* subsections *Stipa* and *Tirsae* (Poaceae) // Syst. Bot. 2013. Vol. 38, N 2. P. 344–378.
- Hamasha H.R., von Hagen K.B., Röser M. *Stipa* (Poaceae) and allies in the Old World: molecular phylogenetics realigns genus circumscription and gives evidence on the origin of American and Australian lineages // Plant Syst. Evol. 2012. Vol. 298. P. 351–367.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4. N 1. 9 p.
- Kramina T. E., Degtjareva G. V., Meschersky I. G. Analysis of hybridization between tetraploid *Lotus corniculatus* and diploid *Lotus stepposus* (Fabaceae-Loteae): morphological and molecular aspects // Plant Syst. Evol. 2012. Vol. 298. P. 629–644.
- Liu, W.S., Dong, M., Song, Z.P., Wei, W. Genetic diversity pattern of *Stipa purpurea* populations in the hinterland of Qinghai-Tibet Plateau // Annals of Applied Biology 2009. Vol. 154. P. 57–65.
- Martinovský J.O. *Stipa* // Flora Europaea. Vol. 5: Alismataceae to Orchidaceae (Monocotyledones). Cambridge etc., 1980. P. 247–252.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155. P. 945–959.
- Pritchard J. K., Wen X., Falush D. Documentation for *structure* software: Version 2.3 [Электронный ресурс]. 2009. Режим доступа: <http://pritchardlab.stanford.edu/structure.html>
- Reddy M. P., Sarla N., Siddiq E.A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding // Euphytica. 2002. Vol. 128. P. 9–17.
- Shan D., Zhao M., Han B., Han G. Examining the genetic diversity of *Stipa grandis* under various grazing pressures // Acta Ecologica Sinica. 2006. Vol. 26, N 10. P. 3175–3183.
- StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 6.1. 2003. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Vázquez F.M., Gutiérrez M. Classification of species of *Stipa* with awns having plumose distal segments // Telopea. 2011. Vol. 13. N 1. 2. P. 155–176.
- Wagner V., Durka W., Hensen I. Increased genetic differentiation but no reduced genetic diversity in peripheral vs. central populations of a steppe grass // Amer. J. Bot. 2011. Vol. 98. N 7. P. 1173–1179.
- Wagner V., Treiber J., Danilhelka J., Ruprecht E., Wesche K., Hensen I. Declining genetic diversity and increasing genetic isolation toward the range periphery of *Stipa pennata*, a Eurasian Feather Grass // International Journal of Plant Sciences. 2012. Vol. 173. N 7. P. 802–811.
- Wolfe A. D., Xiang Q.-Y., Kephart S. R. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable inter simple sequence repeat markers // Mol. Ecol. 1998. Vol. 7. P. 1107–1125.
- Zhang X.-L., Yuan Y.-M., Ge X.-J. Genetic structure and differentiation of *Gentiana atunsiensis* W. W. Smith and *G. striolata* T. N. Ho (Gentianaceae) as revealed by ISSR markers // Bot. J. Linn. Soc. 2007. Vol. 154. P. 225–232.

Поступила в редакцию 30.12.13

## MORPHOLOGICAL AND ISSR DATA FOR *STIPA UCRAINICA* AND *STIPA ZALESSKII* (POACEAE) FROM THE ROSTOV REGION

Yu.O. Kopylov-Guskov, T.E. Kramina

Results of morphological and ISSR analyses of *Stipa ucrainica* and *Stipa zaleskii* from territory of the Rostov Region are presented. The results of all analyses we conducted – unidimensional and multidimensional morphological analyses, analysis of ISSR markers distribution – suggest a high level of differences between *Stipa ucrainica* and *Stipa zaleskii* so these species should not be united.

**Key words:** *Stipa ucrainica*, *Stipa zaleskii*, ISSR, morphological analysis, multidimensional scaling, Bayesian analysis.

**Сведения об авторах:** Копылов-Гуськов Юрий Олегович – аспирант кафедры высших растений биологического факультета МГУ ([yurez-kg@yandex.ru](mailto:yurez-kg@yandex.ru)); Крамина Татьяна Евгеньевна – ст. преподаватель кафедры высших растений биологического факультета МГУ, канд. биол. наук ([tkramina@yandex.ru](mailto:tkramina@yandex.ru)).