

Сведения о выполненных работах
в период с 01.07.2020 г. по 30.06.2021 г.

по проекту «**Ковыли (*Stipa*, *Poaeseae*) Центральной Азии: филогения, таксономия, экология, распространение**»,
поддержанному Российским научным фондом

Соглашение № 19-74-10067

Руководитель: канд. биол. наук Гудкова Полина Дмитриевна

В рамках второго этапа выполнения работ по проекту членами коллектива проведена масштабная научно-исследовательская работа по выявлению гибридов в роде *Stipa* на основании интегративного подхода.

Поскольку современное понимание таксономии *Stipa* по-прежнему в значительной степени основывается на морфологических признаках, результаты работ по проекту доказывают необходимость применения молекулярно-генетических методов для правильной идентификации таксонов и выявления процессов, лежащих в основе видообразования. Это особенно важно для территории Центральной Азии, где продолжающаяся гибридизация и интрогрессия приводит к образованию особей с промежуточным (смешанным) фенотипом или подобным одному из родительских видов, что затрудняет идентификацию таких таксонов с применением только морфологических признаков. Более того, интегративные исследования доказали, что промежуточные фенотипы между двумя видами не обязательно являются гибридами. Установлено, что некоторые межвидовые гибриды имеют промежуточные признаки между родительскими таксонами, их фенотипические признаки могут перекрываться с признаками неродительских видов, что приводит к ошибочной идентификации. Учитывая данные обстоятельства, в рамках проекта был применен интегративный подход, объединяющий данные по полногеномному анализу и морфологии, чтобы разграничить виды и установить степень гибридизации в роде *Stipa*.

Важным результатом исследования на втором этапе выполнения работ по проекту является оценка дат расхождения видов, полученная на уровне видов и популяций. Установлено, что потенциальное расхождение между *S. capillata* и *S. baicalensis*, *S. krylovii*, *S. grandis* произошло примерно 0,95 млн лет назад, что аналогично нашей предыдущей оценке – 1,53 млн лет назад на основе NOR региона. Сделан вывод, что диверсификация в пределах видов *S. capillata*, *S. baicalensis*, *S. krylovii* и *S. grandis* началась около 110–85 тыс. лет назад (95 % HPD: 160–50 тыс. лет назад). Этот возраст соответствует периоду между последним межледниковым периодом, начавшимся около 130 тыс. лет назад, и последним ледниковым периодом (LGP), начавшимся около 110 тыс. лет назад. Таким образом, подтверждена гипотеза о том, что климатические изменения во время последней ледниковой эпохи были движущей силой современного распространения ковылей, что в общем является типичным для высших семенных растений. Так же одной из важнейших задач проекта было выявление гибридных комплексов. Проанализирован один из

сложнейших комплексов *S. capillata*, *S. grandis*, *S. baicalensis*, *S. krylovii*, в том числе проведен морфологический и молекулярно-генетический анализ методом DartSeq. Изначально, на основании анализа морфологических признаков и распространения, была высказана гипотеза о том, что *S. baicalensis* является гибридом, происходящим от комбинации двух из выше перечисленных видов – *S. grandis* × *S. krylovii* или *S. capillata* × *S. krylovii*. Основываясь на данных SNP, полученных в результате генотипирования, выявлено четыре генетические группы, представляющие отдельные морфологические виды, и доказано, что *S. baicalensis* является генетически отличным видом, а не таксоном гибридного происхождения, как предполагалось ранее. Установлено наличие гибридов F1 и F2, что указывает на низкий уровень репродуктивной изоляции этих видов. Наличие в природных популяциях особей F2 или более продвинутых поколений гибридов дает основание предположить, что среди гибридов F1 встречаются фертильные особи, способные к половому размножению. Это наблюдение согласуется с нашими предыдущими выводами о гибридизации внутри рода сделанным по итогам первого года выполнения работ по проекту, где прямой подход доказал, что гибридный таксон *S. heptapotamica* производит фертильные пыльцевые зерна и способен к обратному скрещиванию в основном с одним родительских видов (Nobis et al., 2019). Обнаружены несколько обратных скрещиваний *S. baicalensis* × *S. krylovii* и *S. grandis* × *S. krylovii* с их родительскими видами, что указывает на возможную интрогрессию между таксонами. Выявлены признаки современного потока генов между популяциями видов из секции *Leiostipa*. Более того, анализ паттернов ВАВА / АВВА среди видов выявил признаки прошлой интрогрессии между *S. baicalensis* и *S. krylovii*, *S. baicalensis* и *S. grandis*, *S. krylovii* и *S. grandis*. Принимая во внимание время диверсификации этих видов, можно предположить, что поток генов начался относительно недавно с точки зрения эволюции и, по-видимому, все еще присутствует между *S. baicalensis* и *S. krylovii*, а также в паре *S. grandis* и *S. krylovii*.

В отчетном году получены и интерпретированы данные морфометрического анализа 5 гибридных комплексов: *S. consanguinea*, *S. sczerbakovii*, *S. sareptana*, *S. korshinskyi*, *S. drobovii*; исследована их морфологическая изменчивость, определены границы видов, выявлены гибриды. Отобрано 282 образца для молекулярно-генетического анализа. Проведено секвенирование и анализ данных методом DArTseq. На основании анализа маркеров SilicoDArT и SNP доказана гибридная природа *S. consanguinea* и ее происхождение от *S. krylovii* × *S. glareosa* на морфологическом и молекулярно-генетическом уровнях. Так же, проведенный анализ доказал, что *S. sczerbakovii* на морфологическом и генетическом уровнях идентичен трем другим описанным видам, что позволило свести эти виды в синонимы. Впервые для науки обнаружен гибрид между *S. drobovii* и *S. richteriana*, который сейчас находится на стадии описания и обнародования. Проанализированные образцы *S. sareptana* показали значительную неоднородность данного вида и сложную генетическую структуру, что потребует на следующем этапе вовлечения в молекулярно-генетический анализ большего числа образцов. Проведен анализ

комплекса *Stipa korshinskyi* и интегративный подход позволили установить, что понимаемый под этим видом морфотип представлен двумя гибридами.

Получен результат по полногеномному секвенированию *S. capillata*. Собран «черновой» геном, который будет применен в дальнейшей работе как в рамках проекта, так и в других исследованиях. «Черновой» вариант генома размером около 1004 т.п.о. получен с длиной контига N50 в 351 т.п.н. Всего предсказано 154 755 генов, кодирующих белок, и 94 237 из них – аннотированы. Собранные ядерные, митохондриальные и хлоропластные геномы являются важным источником генетической информации для исследований по филогении и гибридизации ковылей и семейства злаковых в целом. Полученный набор данных необработанных чтений будет доступным и полезным для всех, кто работает с «long-read bioinformatics methods».

Таким образом, во второй год реализации проекта выполнены все запланированные виды работ. Результаты обобщены и опубликованы в журнале *Scientific Reports* группы Nature (Springer Nature, Q1; 5-year Impact Factor – 4.576). Еще две статьи находятся на стадии рецензирования в редакции журнала *Scientific Reports* группы Nature и *BMC Plant Biology* (Springer Nature, Q1; 5-year Impact Factor – 4.494). Три статьи находятся на стадии оформления результатов.