

## ГИБРИДИЗАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В РАМКАХ РОДА *SPARGANIUM* L. ПОДРОДА *XANTHOSPARGANIUM* HOLMB. ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ (NEXT GENERATION SEQUENCING — NGS)

© Е.А. Беляков<sup>1,2</sup>, Э.М. Мачс<sup>3</sup>, Ю.В. Михайлова<sup>3</sup>, А.В. Родионов<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина» РАН, пос. Борок, Ярославская обл.;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Череповецкий государственный университет», Череповец;

<sup>3</sup> ФГБУН «Ботанический институт им. В.Л. Комарова» РАН, Санкт-Петербург;

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Для цитирования: Беляков Е.А., Мачс Э.М., Михайлова Ю.В., Родионов А.В. Гибридационные процессы в рамках рода *Sparganium* L. подрода *Xanthosparganium* Holmb. по данным секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing — NGS) // Экологическая генетика. — 2019. — Т. 17. — № 4. — С. 27–35. <https://doi.org/10.17816/ecogen17427-35>.

Поступила: 04.07.2019

Одобрена: 07.10.2019

Принята: 17.12.2019

✿ В работе изложены результаты сравнительного исследования внутригеномного полиморфизма транскрибируемого спейсера ITS1 гена 35S рРНК у представителей подрода *Xanthosparganium* рода *Sparganium*, полученные методом locus-специфичного секвенирования следующего поколения на платформе Illumina MiSeq. Показано, что вариации риботипов изученных образцов, в целом, соответствуют делению рода на три секции — *Erecta* (подрод *Sparganium*), *Natantia* и *Minima* (подрод *Xanthosparganium*). Высокий уровень внутригеномного полиморфизма выявлен у *S. hyperboreum*, риботипы которого были распределены по нескольким группам. В геноме этого вида присутствуют риботипы, характерные для других видов подрода *Xanthosparganium*. У двух изученных образцов *S. glomeratum* нами не обнаружено риботипов, сходных с таковыми у других видов секции *Natantia*. *S. glomeratum* имеет одинаковые риботипы с *S. hyperboreum* из секции *Minima*. Такая особенность может являться признаком древней межсекционной гибридизации этих двух видов. Особенности рДНК *S. glomeratum* говорят в пользу того, что вид может быть отнесен к секции *Minima*. Высказано мнение, что видообразовательные процессы в рамках рода могли происходить не только на основе гибридизации, но и аллопатрическим путем. Первое подтверждается наличием близких и одинаковых риботипов у *S. emersum*, *S. × longifolium*, *S. gramineum* и *S. hyperboreum*; второе, как ранее указывалось другими исследователями, кроется в близкой связи североамериканских и евроазиатских таксонов.

✿ **Ключевые слова:** Турпасаеа; ежеголовник; геносистематика; молекулярная филогения; межвидовая гибридизация; видообразование.

## THE STUDY OF HYBRIDIZATION PROCESSES WITHIN GENUS *SPARGANIUM* L. SUBGENUS *XANTHOSPARGANIUM* HOLMB. BASED ON DATA OF NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)

© Е.А. Belyakov<sup>1,2</sup>, E.M. Machs<sup>3</sup>, Yu.V. Mikhailova<sup>3</sup>, A.V. Rodionov<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS, pos. Borok, Yaroslavl Region, Russia;

<sup>2</sup> Cherepovets State University, Cherepovets, Russia;

<sup>3</sup> Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia;

<sup>4</sup> St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Cite this article as: Belyakov EA, Machs EM, Mikhailova YuV, Rodionov AV.

The study of hybridization processes within genus *Sparganium* L. subgenus *Xanthosparganium* Holmb. based on data of Next Generation Sequencing (NGS).

*Ecological genetics*. 2019;17(4):27-35. <https://doi.org/10.17816/ecogen17427-35>.

Received: 04.07.2019

Revised: 07.10.2019

Accepted: 17.12.2019

✿ The study represents the results of research of intragenic polymorphism in transcribed spacer ITS1 of the 35S rRNA genes in representatives of subgenus *Xanthosparganium* genus *Sparganium* which were obtained by means of locus-specific next generation sequencing on the platform Illumina MiSeq. It was shown that ribotype variations in studied samples generally correspond to the division of this genus into three sections — *Erecta* (subgenus *Sparganium*), *Natantia* and *Minima* (subgenus *Xanthosparganium*). High level of intragenic polymorphism was revealed in *S. hyperboreum*, with ribotypes distributed among several groups. Genome of this species includes ribotypes which are typical for other species in subgenus *Xanthosparganium*. For two investigated *S. glomeratum* samples, there were no ribotypes similar to such ribotypes in other species of *Natantia* section. *S. glomeratum* has got ribotypes identical with *S. hyperboreum* of *Minima* section. This feature may be the evidence of ancient intersectional hybridization of these two species. Characteristics of rDNA in *S. glomeratum* are in favor

of putting this species into *Minima* section. It was suggested that speciation processes within the genus could be based not only on hybridization but also went on in allopatric way. The first statement is supported by the presence of similar and identical ribotypes in *S. emersum*, *S. × longifolium*, *S. gramineum* and *S. hyperboreum*, the second — as it was mentioned by other researchers, is due to close relationship between North American and Eurasian taxa.

✿ **Keywords:** Typhaceae; bur-reed; gene systematics; molecular phylogeny; interspecific hybridization; speciation.

## ВВЕДЕНИЕ

Явления межвидовой и межродовой гибридизации в последнее время рассматриваются как эффективный путь к освоению новых экологических ниш и видообразованию у сосудистых растений [1–4]. Среди 37 тыс. видов флоры Европы, Северной Америки и части Австралии, относящихся к 3212 родам 282 семейств сосудистых растений, виды, морфология которых позволяет предполагать их гибридное происхождение, были отмечены в 40 % семейств и 16 % родов со средней частотой 9 видов гибридного происхождения на 100 видов негибридного происхождения [5]. В частности, среди водных и прибрежно-водных растений гибриды отмечены в составе родов *Potamogeton* L. [6–9], *Nuphar* Smith [10], *Nymphaea* L. [11, 12], *Carex* L. [13–15], *Ranunculus* L. [16, 17], *Typha* L. [18, 19]. Большой интерес как объект исследования, с этой точки зрения, вызывает род *Sparganium* L. (ежеголовник), относящийся к сестринскому для Роасеае семейству Typhaceae [20–24].

Геном *Sparganium* один из наименьших геномов среди сосудистых растений —  $1C = 490$  млн п. н. [25]. Заметим, что в отличие от злаков, у которых вследствие недавних актов полиплоидизации и вторичной диплоидизации происходило неоднократное изменение числа хромосом в геноме [26, 27], у разных видов ежеголовников, число хромосом стабильно —  $2n = 30$  [28, 29], то есть средний размер хромосомы у ежеголовников 32 млн п. н. — в 4 раза меньше чем, например, у человека.

В кариотипе *Sparganium* две пары ядрышкообразующих хромосом [30]. Относительно высокое число хромосом в кариотипе ( $x = 15$ ) позволяет предположить, что все представители рода полиплоиды, вероятно, аллотетраплоиды [31]. Имеющиеся данные позволяют предполагать распространение в роде ежеголовник межвидовой гибридизации, способствующей созданию новых генотипов и фенотипов, позволяющих растениям занимать определенные экологические ниши в разнотипных водоемах в широком спектре природно-климатических зон. Так, Y. Ito et al. [23] путем сравнения топологии молекулярно-филогенетических древ, построенных на основании вариаций последовательностей генов хлоропластной ДНК и ядерного гена фитохрома C (*phyC*), показали существование целого ряда комбинаций гибридов — *S. angustifolium* × *S. emersum* (*S. englerianum* Asch. et Graebn.), *S. hyperboreum* × *S. natans*, *S. acuale* × *S. fluctuans* и *S. fallax* × *S. japonicum*. По-видимо-

му, гибриды ежеголовников — гомоплоидные гибриды, сохраняющие уровень ploidy, характерный для родительских видов. Такой тип гибридизации, сопровождающийся, как правило, включением некоторой части генов одного родительского вида в геном другого, назван интрогрессивной гибридизацией [32].

Нами проведен сравнительный анализ внутривидового полиморфизма в подроде *Xanthosparganium* Holmb. рода *Sparganium* и поиск следов гибридных процессов у родственных видов рода путем локус-специфичного секвенирования транскрибируемого спейсера (targeted sequencing — ITS1) многократно повторенных в геноме генов 35S рРНК, кодирующих последовательности 18S, 5.8S и 26S рРНК большой и малой субъединиц рибосом. У растений эти последовательности транскрибируются в виде одной транскрипционной единицы, молекулярная масса транскрипта около 35S (у животных 45S) [33]. В каждом ядрышковом организаторе (ЯОР) может быть несколько тысяч генов 35S рРНК [34, 35]. Исследование гомоплоидных гибридов и аллополиплоидов показало, что в их геноме в течение многих поколений могут сохраняться гены 35S рРНК, полученные от предков. Их секвенирование позволяет выявлять события межвидовой гибридизации в недавней истории вида [36, 37], что и было целью нашей работы.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В связи с вероятным гибридным происхождением видов, мы исследовали внутривидовый полиморфизм маркерного участка ядерного генома (первого транскрибируемого спейсера ITS1 гена 35S рРНК) методом локус-специфичного секвенирования района ITS1 на секвенаторе Illumina MiSeq. Выбор именно района ITS1 в качестве маркера обусловлен тем, что в ряде случаев изогенизация рДНК происходит не полностью и гибриды сохраняют в своем геноме родительские последовательности (например, [38]). Успешное исследование гибридного происхождения с помощью пиросеквенирования района ITS1 было ранее проведено для орхидей [39].

Выделение геномной ДНК производилось как описано в [40], далее образцы ДНК передавались в ЦКП ВНИИСХМ для подготовки библиотек и секвенирования.

Первичные данные секвенирования следующего поколения (next generation sequencing (NGS)) обрабатывались при помощи стандартных инструментов: про-

грамм FastQC [41], Trimmomatic [42] и Fastq-join [43]. Для дальнейшей фильтрации данных использовали: консенсусную фильтрацию гаплотипов, подсчет соответствующих частот встречаемости гаплотипов, сортировку в порядке уменьшения частоты встречаемости гаплотипов (одинаковые гаплотипы представлены в дальнейшем анализе одной копией, но с указанием частоты повторения), исключение из анализа единичных и редких гаплотипов, безреференсное выравнивание и фильтрацию контаминантов по базе данных ГенБанка (BLAST) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

Данные NGS о внутригеномных путях последовательностей ITS1 были получены нами для следующих гербарных образцов *Sparganium*: *S. emersum* Rehm. (образец № 55 — Россия, Тверская обл., Андреапольский р-н, оз. Паршинское в окрестностях д. Паршино и пос. Бологово, 14.VIII.2016 г., собр.: Е.А. Беляков, Э.В. Гарин, в коллекции Е.А. Белякова; № 56 — Респ. Беларусь, Минская обл., Мядельский р-н, р. Страча, Заказник «Голубые озера», 23.VI.2016 г., собр.: Е.А. Беляков, Э.В. Гарин, А.Г. Лапиров, в коллекции Е.А. Белякова; № 59 — Россия, Нижегородская обл., Арзамаский р-н, окр. с. Старая Пустынь, в протоке между оз. Долгое и Паровое, 14.VIII.2014 г., собр.: Е.А. Беляков, в коллекции Е.А. Белякова), *S. gramineum* Georgi (образец № 61 — Тюменская обл., Сургутский р-н, в 10 км. от с. п. Угут, оз. Екипомыхлор (Киняминское), мелководье у берега, 28.VII.2000 г., собр.: А.С. Байкалова, LE), *S. glomeratum* (Laest. ex Beurl.) Neuman (образец № 52 — Россия, Ярославская обл., Пошехонский р-н, окрестности д. Голодяйка, в лесной канаве, 10.IX.2016 г., собр.: Е.А. Беляков, в коллекции Е.А. Белякова; № 58 — Россия, Вологодская обл., Череповецкий р-н, Дарвинский заповедник, окр. д. Муравьево, ручей, приток р. Чимсоры, 01.VIII.1997 г. собр.: А.А. Бобров, IBIW), *S. hyperboreum* Laest. (образец № 51 — Россия, Тюменская обл., Тазовский р-н, окр. п. Тазовский, в обводненном придорожном понижении, 01.VIII.2015 г., собр.: С.А. Николаенко, в коллекции Е.А. Белякова; № 53 — то же, проросшее из семян растение; № 57 — Россия, Респ. Коми, Ижемский р-н, в 76 км от с. Ижма, путепровод Б. Ижма, в 2,5 км ниже, 02.VIII.1979 г., собр.: З.Г. Улле, в коллекции Е.А. Белякова), *S. microcarpum* (Neum.) Domin (образец № 60 — Респ. Беларусь, Минская обл., Мядельский р-н, р. Страча, Заказник «Голубые озера», 23.VII.2016 г., собр.: Е.А. Беляков, Э.В. Гарин, А.Г. Лапиров, в коллекции Е.А. Белякова) и одном гибриде *S. × longifolium* Turcz. ex Ledeb. (образец № 62 — Россия, Ярославская обл., Ростовский р-н., мелководье оз. Чашницкое в окр. д. Чашницы, 16.VIII.2016 г., собр.: Е.А. Беляков, в коллекции Е.А. Белякова).

Всего нами были получены данные для пяти видов и одного гибрида. Кроме того, для сравнительного анализа из базы данных GenBank [41] были взяты последо-

вательности следующих видов: *S. emersum* (KF265393), *S. glomeratum* (KF265386), *S. gramineum* (KF265381), *S. fluctuans* (KF265378), *S. fallax* (KF265376), *S. subglobosum* (KF265397, KF265387), *S. hyperboreum* (KF265396), *S. natans* (KF265385), *S. stoloniferum* (KF265395) [22].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные нами результаты показывают, что риботипы изученных образцов распределены по 10 группам (см. рисунок). Группа 1 (SAE) включает в себя KF265393, аннотированную в ГенБанке как *S. emersum*. Однако риботип данного образца отличается от исследованного нами образца *S. emersum* из Респ. Беларусь на 8 нуклеотидных замен. Такое различие позволяет нам согласиться с мнением Y. Ito et al. [23], что последовательность KF265393 была секвенирована из образца, который должны были определить как *S. acaule* [23]. Группа 2 (SGH) образована, главным образом, риботипами *S. glomeratum* и, в меньшей степени, риботипами *S. hyperboreum*. При этом у двух образцов *S. glomeratum* имеются общие риботипы только с образцами *S. hyperboreum*. Группа 3 (SLG) включает в себя риботипы *S. × longifolium* и его родительского вида — *S. gramineum* (KF265381). Группа 4 (SFS) представлена *S. fluctuans* (KF265378 из ГенБанка). В самую большую группу 5 (SNA) объединены риботипы *S. emersum*, *S. glomeratum*, *S. gramineum* и *S. × longifolium*, относящиеся к секции *Natantia*. Далее следуют две группы риботипов, выделенные на базе образцов из ГенБанка: группа 6 (SFX) — представлена риботипом *S. fallax* (KF265376); группа 7 (SSM) — риботипом *S. subglobosum* (KF265397, KF265387). Группа 8 (SNH) образована как риботипами *S. natans* (KF265385) и *S. hyperboreum* (KF265396), так и полученными нами риботипами из образцов *S. hyperboreum* из Тюменской обл. и Респ. Коми. Группа 10 (SHM) несет риботипы, характерные только для *S. hyperboreum*. Отметим, что группы 8 и 10 отличаются характерными информативными нуклеотидными заменами по 20 несовпадающим позициям. Группа 9 (SMH) включает в себя риботипы представителей секции *Erecta* (*S. stoloniferum* (KF265395) и *S. microcarpum* из Респ. Беларусь). Здесь же отмечено наличие редко встречающихся риботипов *S. hyperboreum*.

По данным сравнительного анализа внутригеномного полиморфизма участка ITS1, *S. hyperboreum* сохранил в своем геноме следы гибридизационных процессов с *S. glomeratum*. Наличие одинаковых риботипов у *S. glomeratum* и *S. hyperboreum* может указывать на то, что эти два вида близки и включены лишь в редкие события интрогрессивной гибридизации. Напротив, у *S. emersum*, *S. × longifolium*, *S. gramineum* и *S. hyperboreum* имеется много близких и одинаковых риботипов.



Наиболее отдален от всех изученных образцов *S. microcarpum*. В эту же группу входит образец *S. stoloniferum* из ГенБанка. Оба вида входят в состав подрода *Sparganium*. Заметим, что в данную группу также попали и единичные риботипы *S. hyperboreum* (образец № Е51 из Тюменской обл.).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нестабильных климатических условиях олигоцена и последующих геологических эпох степень устойчивости ежеголовников к похолоданию и значительным температурным колебаниям возрастала, что не могло не способствовать расширению ареала отдельных видов. На этом фоне, перекрытие ареалов таксонов и различные критические ситуации, коими явились периодические климатические изменения и антропогенная трансформация биотопов, могли вызывать спонтанную гибридизацию видов [44–56]. Именно гибридные растения, занимающие по своим признакам (например, по характеру и структуре эндокарпов [47–48]) промежуточное положение, возможно, в первых поколениях гетерозисные, высокополиморфные по геному и фенотипу, имели шанс адаптироваться к новым экологическим условиям.

Как показало наше исследование, наличие близких и одинаковых риботипов в группе *S. emersum*, *S. × longifolium*, *S. gramineum* и *S. hyperboreum* указывает на наличие гибридизации в рамках секции *Natantia* подрода *Xanthosparganium*. Вывод о гибридном происхождении *S. × longifolium* согласуется и с особенностями его морфологии — в нем сочетаются признаки *S. emersum* и *S. gramineum* [49]. Гибридизация между этими видами и случай возвратных гибридов вполне возможны, поскольку ареалы видов частично перекрываются. В данном случае, по-видимому, селективная дифференциация ведет к замещению естественных (родительских) видов путем генетической ассимиляции [50]. Кроме того, гибридизация между двумя высокоспециализированными видами может способствовать вторичной деспециализации, повышающей экологическую пластичность гибрида. Примером этого утверждения может служить то, что *S. × longifolium* со временем вытесняет из водоема родительские виды ежеголовников, постепенно занимая их место обитания [49].

Полученная нами картина распределения гаплотипов согласуется с разделением *Sparganium* на два подрода — *Sparganium* и *Xanthosparganium*. В рамках подрода *Xanthosparganium* хорошо поддерживаются представители секций *Natantia* (*S. emersum*, *S. × longifolium*, *S. gramineum*) и *Minima* (*S. hyperboreum* и *S. natans*). Однако наличие общих риботипов у исследованных образцов *S. hyperboreum* и *S. glomeratum* позволяет говорить о переносе последнего из секции *Natantia* в секцию *Minima*. Ранее принадлежность *S. glomeratum* к секции *Natantia* была обусловлена, прежде всего, габитуальным сходством (размерные характери-

сти, листья с выраженным килем и т. д.) этого растения со *S. emersum*. Отметим, что лектотипом секции *Natantia* является *S. angustifolium* Michx. [53]. Между тем, *S. glomeratum* имеет промежуточное положение по длине столбика (у плодика) между двумя вышеупомянутыми секциями (для примера, у *S. glomeratum* длина столбика  $1,3 \pm 0,2$  мм, у *S. emersum* —  $3,4 \pm 0,6$  мм, у *S. hyperboreum* —  $0,3 \pm 0,1$  мм), обладает сближенными друг с другом верхними пестичными соцветиями, что нередко наблюдается у представителей секции *Minima*. Таким образом, перенос *S. glomeratum* в секцию *Minima* может быть обоснован как молекулярными, так и морфологическими признаками.

Наличие общих для всех исследованных видов подрода *Xanthosparganium* гаплотипов может свидетельствовать о распространенности гибридизации в подрode. Следует отметить, что значительный внутригеномный полиморфизм был обнаружен у *S. hyperboreum*, который имел общие гаплотипы с тремя другими видами секции *Natantia*. Наибольшее число общих гаплотипов отмечено у *S. hyperboreum* и *S. glomeratum*. При этом сам *S. glomeratum* имел общие гаплотипы только с *S. hyperboreum*. Такую картину можно объяснить интрогрессивной гибридизацией между этими двумя видами. Кроме того, сам *S. hyperboreum* может быть видом гибридного происхождения, результатом гибридизации видов из разных секций — *Natantia* и *Minima*.

Видообразование в рамках рода могло происходить не только на основе гибридизации, но и аллопатрическим путем. В этом отношении важную роль играет подтверждение на молекулярном уровне близкой связи между североамериканскими и евразийскими парами видов, например, такими как *S. fluctuans* — *S. gramineum* [22, 23]. Существуют и другие пары видов, интересующие современных исследователей (например, *S. americanum* — *S. japonicum* [54]), родственные связи которых пока еще недостаточно изучены по молекулярным данным [22]. Высказанная ранее точка зрения о формировании таксонов аллопатрическим путем [22, 23] подтверждается еще и тем, что в эоцене—олигоцене произошло объединение материковых фрагментов, приведшее к сокращению числа экологических провинций: Индостан отделился от Африки и присоединился к Азии; в мелу—палеогене (52–60–65 млн лет назад) раскололась Лавразия — Северная Америка отделилась от Гренландии, а Гренландия — от Европы, произошел раскол остатков Гондваны — разделение Антарктиды и Австралии [55]. Заметим, что подтверждение близкой связи североамериканских и евроазиатских таксонов указывает на монофилетичность рода *Sparganium* [22, 56].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительный анализ внутригеномного полиморфизма спейсера ITS1 по данным NGS показывает, что распределение близких гаплотипов изучен-

ных образцов соответствует делению рода *Sparganium* на два подрода (*Sparganium* и *Xanthosparganium*).

В рамках подрода *Xanthosparganium* хорошо поддерживается секция *Minima*. Что касается секции *Natantia*, то у двух изученных образцов *S. glomeratum* не обнаружено одинаковых гаплотипов с другими изученными образцами видов этой секции, но имеются одинаковые гаплотипы с двумя изученными образцами *S. hyperboreum* из секции *Minima*. Таким образом, *S. glomeratum* может быть отнесен к секции *Minima*.

Наличие большого числа гибридных таксонов, в том числе и межсекционных, позволяет рассматривать род *Sparganium* как перспективный для молекулярно-филогенетических исследований интрогрессивно-межвидовой комплекс.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» и ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН.

Исследование было поддержано проектом РФФИ № 18-34-00257 мол\_а «Молекулярная филогения, адаптивный потенциал и особенности морфологической эволюции некоторых сосудистых растений при освоении водной среды», а также, частично, грантом РФФИ № 18-04-01040 «Пути и механизмы изменений геномов и кариотипов цветковых растений у межвидовых гибридов и гибридогенных видов».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Vaack EJ, Rieseberg LH. A genomic view of introgression and hybrid speciation. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17(6):513-518. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.09.001>.
2. Soltis PS, Soltis DE. The role of hybridization in plant speciation. *Annu Rev Plant Biol.* 2009;60:561-588. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>.
3. Носов Н.Н., Пунина Е.О., Мачс Э.М., Родионов А.В. Межвидовая гибридизация в происхождении видов растений на примере рода *Poa sensu lato* // Успехи современной биологии. — 2015. — Т. 135. — № 1. — С. 21–39. [Nosov NN, Punina EO, Machs EM, Rodionov AV. Interspecies hybridization in the origin of plant species: cases in the genus *Poa sensu lato*. *Biology Bulletin Reviews.* 2015;5(4):366-382.] <https://doi.org/10.1134/S2079086415040088>.
4. Родионов А.В., Амосова А.В., Беляков Е.А., и др. Генетические последствия межвидовой гибридизации, ее роль в видообразовании и фенотипическом разнообразии растений // Генетика. — 2019. — Т. 55. — № 3. — С. 255–272. <https://doi.org/10.1134/S0016675819030159>. [Rodionov AV, Amosova AV, Belyakov EA, et al. Genetic consequences of interspecific hybridization, its role in speciation and phenotypic diversity of plants. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55(3):278-294.] <https://doi.org/10.1134/S1022795419030141>.
5. Whitney KD, Ahern JR, Campbell LG, et al. Patterns of hybridization in plants. *Perspect Plant Ecol Evol Syst.* 2010;12(3):175-182. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.02.002>.
6. Kaplan Z, Fehrer J. Molecular identification of hybrids from a former hot spot of *Potamogeton* hybrid diversity. *Aquat Bot.* 2013;105:34-40. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2012.11.002>.
7. Iida S, Kadono Y, Kosuge K. Maternal effects and ecological divergence in aquatic plants: a case study in natural reciprocal hybrids between *Potamogeton perfoliatus* and *P. wrightii*. *Plant Species Biol.* 2013;28(1):3-11. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12006>.
8. Ito Y, Tanaka N, Poorna R, Tanaka N. DNA barcoding reveals a new record of *Potamogeton distinctus* (Potamogetonaceae) and its natural hybrids, *P. distinctus* × *P. nodosus* and *P. distinctus* × *P. wrightii* (*P. malainoides*) from Myanmar. *Biodivers Data J.* 2014;2: e1073. <https://doi.org/10.3897/bdj.2.e1073>.
9. Yang T, Zhang TI, Guo YH, Liu X. Identification of hybrids in *Potamogeton*: incongruence between plastid and its regions solved by a novel barcoding marker *PHYB*. *PLoS ONE.* 2016;11(11):1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166177>.
10. Arrigo N, Bétrisey S, Graf L, et al. Hybridization as a threat in climate relict *Nuphar pumila* (Nymphaeaceae). *Biodivers Conserv.* 2016;25(10):1863-1877. <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1165-z>.
11. Borsch T, Wiersema JH, Hellquist CB, et al. Speciation in North American water lilies: evidence for the hybrid origin of the newly discovered Canadian endemic *Nymphaea loriana* sp. nov. (Nymphaeaceae) in a past contact zone. *Botany.* 2014;92(12):867-882. <https://doi.org/10.1139/cjb-2014-0060>.
12. Nierbauer KU, Kanz B, Zizka G. The widespread naturalisation of *Nymphaea* hybrids is masking the decline of wild-type *Nymphaea alba* in Hesse, Germany. *Flora.* 2014;209(2):122-130. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.12.005>.
13. Więclaw H, Koopman J. Numerical analysis of morphology of natural hybrids between *Carex hostiana* and the members of *Carex flava* agg. (Cyperaceae). *Nord J Bot.* 2013;31(4):464-472. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2013.00095.x>.
14. Więclaw H, Wilhelm M. Natural hybridization within the *Carex flava* complex (Cyperaceae) in Poland: morphometric studies. *Ann Bot Fenn.* 2014;51(3):129-147. <https://doi.org/10.5735/085.053.0101>.
15. Pedersen AT, Nowak MD, Brysting AK, et al. Correction: hybrid origins of *Carex rostrate* var. *borealis* and *C. stenolepis*, two problematic taxa in *Carex* section

- Vesicariae* (Cyperaceae). *PLoS ONE*. 2016;11(10): 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165430>.
16. Zalewska-Gałosz J, Jopek M, Ilnicki T. Hybridization in *Batrachium* group: controversial delimitation between heterophyllous *Ranunculus penicillatus* and the hybrid *Ranunculus fluitans* × *R. peltatus*. *Aquat Bot*. 2015;120:160-168. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.03.002>.
  17. Bobrov AA, Zalewska-Gałosz J, Jopek M, Movergoz EA. *Ranunculus schmalhauseni* (section *Batrachium*, Ranunculaceae), a neglected water crowfoot endemic to Fennoscandia – a case of rapid hybrid speciation in postglacial environment of North Europe. *Phytotaxa*. 2015;233(2):101-138. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.233.2.1>.
  18. Ball D, Freeland J. Synchronous flowering times and asymmetrical hybridization in *Typha latifolia* and *T. angustifolia* in northeastern North America. *Aquat Bot*. 2013;104:224-227. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2012.08.006>.
  19. Freeland J, Ciotir C, Kirk H. Regional differences in the abundance of native, introduced, and hybrid *Typha* spp. in northeastern North America influence wetland invasions. *Biol Invasions*. 2013;15(12):2651-65. <https://doi.org/10.1007/s10530-013-0481-4>.
  20. Givnish TJ, Barfuss MH, van Ee B, et al. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in *Bromaliaceae*: insights from an 8-locus plastid phylogeny. *Am J Bot*. 2011;98(5):872-895. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000059>.
  21. Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, et al. Monocot plastid phylogenomics, timeline, net rates of species diversification, the power of multi-gene analyses, and a functional model for the origin of monocots. *Am J Bot*. 2018;105(11): 1888-1910. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1178>.
  22. Sulman JD, Drew BT, Drummond C, et al. Systematics, biogeography, and character evolution of *Sparganium* (Typhaceae): diversification of a widespread, aquatic lineage. *Am J Bot*. 2013;100(10):2023-2039. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300048>.
  23. Ito Y, Tanaka N, Kim C, et al. Phylogeny of *Sparganium* (Typhaceae) revisited: non-monophyletic nature of *S. emersum* sensu lato and resurrection of *S. acaule*. *Plant Syst Evol*. 2016;302(1):129-135. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1245-7>.
  24. Su T, Yang JX, Lin YG, et al. Characterization of the complete chloroplast genome of *Sparganium stoloniferum* (Poales: Typhaceae) and phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA B Resour*. 2019;4(1):1402-1403. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1598798>.
  25. Leitch IJ, Johnston E, Pellicer J, et al. Plant DNA C-values database. Release 7.1, April 2019. Available from: <https://cvalues.science.kew.org/>.
  26. Родионов А.В., Ким Е.С., Пунина Е.О., и др. Эволюция хромосомных чисел в трибах *Aveneae* и *Poeae* по данным сравнительного исследования внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 ядерных генов 45S рРНК // Ботанический журнал. — 2007. — Т. 92. — № 1. — С. 57–71. [Rodionov AV, Kim ES, Punina EO, et al. Evolution of chromosome numbers in the tribes *Aveneae* and *Poeae* inferred from the comparative analysis of the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 of nuclear 45S rRNA genes. *Botanicheskii zhurnal*. 2007;92(1):57-71. (In Russ.)]
  27. Salse J. Deciphering the evolutionary interplay between subgenomes following polyploidy: a paleogenomics approach in grasses. *Am J Bot*. 2016;103(7):1167-1174. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500459>.
  28. Болховских З.В., Гриф В.Г., Захарьева О.И., Матвеева Т.С. Хромосомные числа цветковых растений. — Л.: Наука, 1969. — 926 с. [Bolkhovskikh ZV, Grif VG, Zakharyeva OI, Matveeva TS. Khromosomnyye chisla tsvetkovykh rasteniy. Leningrad: Nauka; 1969. 926 p. (In Russ.)]
  29. Арапова Н.Д., Архарова К.Б., Вахтина Л.И., и др. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: Морaceae-Zygophyllaceae. — СПб.: Наука, 1993. — 427 с. [Agapova ND, Arkharova KB, Vakhtina LI, et al. Chisla khromosom tsvetkovykh rasteniy flory SSSR: Moraceae-Zygophyllaceae. Saint Petersburg: Nauka; 1993. 427 p. (In Russ.)]
  30. Kim CS, Kim SY, Meon MO. A new record for the Korean flora: *Sparganium fallax* Graebn. (Sparganiaceae). *Korean J Plant Taxonomy*. 2010;40(3):169-173. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2010.40.3.169>.
  31. Goldblatt P. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In: Polyploidy. Boston (MA): Springer; 1980. pp. 219-239.
  32. Anderson E. Introgressive hybridization. London—New York: Hafner Publ. Co.; 1969. 109 p.
  33. Seitz U, Seitz U. Molecular-weight of ribosomal-RNA precursor molecules and their processing in higher-plant cells. *Z Naturforsch C Biosci*. 1979;34(3-4): 253-258. <https://doi.org/10.1515/znc-1979-3-416>.
  34. Garcia S, Kovařík A, Leitch AR, Garnatje T. Cytogenetic features of rRNA genes across land plants: analysis of the plant rDNA database. *Plant J*. 2017;89(5):1020-1030. <https://doi.org/10.1111/tj.13442>.
  35. Родионов А.В., Гнутиков А.А., Коцинян А.Р., и др. Последовательность ITS1-5.8S рДНК-ITS2 в генах 35S рРНК как маркер при реконструкции филогении злаков (сем. Poaceae) // Успехи современной биологии. — 2016. — Т. 136. — № 5. — С. 419–437. [Rodionov AV, Gnutikov AA, Kotsinyan AR, et al. ITS1-5.8S rDNA-ITS2 sequence in 35S rRNA genes as marker for reconstruction of phylogeny of grasses (Poaceae family). *Biology Bulletin Reviews*, 2017, 7(2):85-102. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S2079086417020062>.
  36. Egan AN, Schlueter J, Spooner DM. Applications of next-generation sequencing in plant biology. *Am J Bot*.

- 2012;99(2):175-185. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200020>.
37. Пунина Е.О., Мачс Э.М., Крапивская Е.Е., Родионов А.В. Полиморфные сайты в транскрибируемых спейсерах генов 35S рНК пионов как индикатор происхождения сортов // Генетика. — 2017. — Т. 53. — № 2. — С. 181-191. [Punina EO, Machs EM, Kravivskaya EE, Rodionov AV. Polymorphic sites in transcribed spacers of 35S rRNA genes as an indicator of origin of the *Paeonia* cultivars. *Russian Journal of Genetics*. 2017;53(2):202-212.] <https://doi.org/10.1134/S1022795417010112>.
38. Пунина Е.О., Мачс Э.М., Крапивская Е.Е., и др. Межвидовая гибридизация в роде *Paeonia* (Paeoniaceae): полиморфные сайты в транскрибируемых спейсерах генов 45S рНК как индикаторы происхождения природных и искусственных гибридов пионов // Генетика. — 2012. — Т. 48. — № 7. — С. 812. [Punina EO, Machs EM, Kravivskaya EE, et al. Interspecific hybridization in the genus *Paeonia* (Paeoniaceae): polymorphic sites in transcribed spacers of the 45S rRNA genes as indicators of natural and artificial peony hybrids. *Russian Journal of Genetics*. 2012;48(7):684-697.] <https://doi.org/10.1134/S1022795412070113>.
39. Андропова Е.В., Мачс Е.М., Филиппов Е.Г., и др. Филогеография таксонов рода *Cypripedium* (Orchidaceae) на территории России // Ботанический журнал. — 2017. — Т. 102. — № 8. — С. 1027-1059. [Andronova EV, Machs EM, Filippov EG, et al. Phylogeography of the Genus *Cypripedium* (Orchidaceae) taxa in Russia. *Botanicheskii zhurnal*. 2017;102(8):1027-1059. (In Russ.).] <https://doi.org/10.1134/S0006813617080014>.
40. Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 1987;19(1):11-15.
41. National Center for Biotechnology Information. GenBank Overview. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.
42. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
43. Aronesty E. Comparison of sequencing utility program. *Open Bioinformatics J*. 2013;7:1-8. <https://doi.org/10.2174/1875036201307010001>.
44. Taylor SA, Larson EL, Harrison RG. Hybrid zones: windows on climate change. *Trends Ecol Evol*. 2015;30(7):398-406. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.04.010>.
45. Vallejo-Marin M, Hiscock SJ. Hybridization and hybrid speciation under global change. *New Phytologist*. 2016;211(4):1170-1187. <https://doi.org/10.1111/nph.14004>.
46. Preston CD, Pearman DA. Plant hybrids in the wild: evidence from biological recording. *Biol J Linn Soc Lond*. 2015;115(3):555-572. <https://doi.org/10.1111/bij.12577>.
47. Дорощев П.И. Третичные флоры Западной Сибири. — М., Л.: Издательство Академии наук СССР, 1963. — 346 с. [Dorofeev PI. Tretichnyye flory Zapadnoy Sibiri. Moscow-Leningrad: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR; 1963. 346 p. (In Russ.)]
48. Дорощев П.И. К систематике третичных *Sparganium* // Советская палеокарпология: итоги и перспективы / Сб. статей под ред. Г.И. Горещко, В.П. Гричук. — М.: Наука, 1979. — С. 53–75. [Dorofeev PI. K sistematike tretichnykh *Sparganium*. In: (Collected papers) Sovetskaya paleokarpologiya: itogi i perspektivy. Ed. by G.I. Goret'skiy, V.P. Grichuk. Moscow: Nauka; 1979. pp. 53-75. (In Russ.)]
49. Беляков Е.А., Щербаков А.В., Лапиров А.Г., Шилов М.П. Морфология и экологические особенности *Sparganium × longifolium* (Typhaceae) в центре Европейской части России // *Biosystems Diversity*. — 2017. — Vol. 25. — № 2. — С. 154–161. [Belyakov EA, Shcherbakov AV, Lapirov AG, Shilov MP. Morphology and ecological characteristics of *Sparganium × longifolium* (Typhaceae) in the Central part of European Russia. *Biosystems Diversity*. 2017;25(2):154-161. (In Russ.).] <https://doi.org/10.15421/011723>.
50. Виноградова Ю.К., Галкина М.А. Гибридизация как фактор инвазионной активности чужеродных видов золотарника (*Solidago*) // Журнал общей биологии. — 2019. — Т. 80. — № 1. — С. 43–56. [Vinogradova YuK, Galkina MA. Hybridization as a factor of invasive activity of alien species of goldenrods (*Solidago*). *Journal of general biology*. 2019;80(1):43-56. (In Russ.).] <https://doi.org/10.1134/S004445961901007X>.
51. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol*. 1993;10(3):512-526. <https://doi.org/10.1093/oxford-journals.molbev.a040023>.
52. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 2016;33(7):1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
53. Цвелев Н.Н. Заметки о некоторых гидрофильных растениях флоры СССР // Новости систематики высших растений. — 1984. — Т. 21. — С. 232–242. [Tzvelev NN. Notulae de florae URSS plants hydrophilis nonnullis. *Novitates systematicae plantarum vascularium*. 1984;21:232-242. (In Russ.)]
54. Cook CD, Nicholls MS. A monographic study of the genus *Sparganium*. Part 2: Subgenus *Sparganium*. *Bot Helv*. 1987;97(1):1-44.

55. Снакин В.В. Динамика биоразнообразия, дрейф материков и глобализация // Век глобализации. — 2015. — № 1. — С. 66–74. [Snakin VV. The Dynamics of biodiversity, continental drift and globalization. *Age of Globalization*. 2015;(1):66-74. (In Russ.)]
56. Chaw SM, Zharkikh A, Sung HM, et al. Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18S rRNA sequences. *Mol Biol Evol*. 1997;14(1):56-68. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025702>.

## ✿ Информация об авторах

**Евгений Александрович Беляков** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория высшей водной растительности, ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина» РАН, пос. Борок, Ярославская обл; ФГБОУ ВО «Череповецкий государственный университет», Череповец. SPIN: 6944-1980. E-mail: eugenybelyakov@yandex.ru.

**Эдуард Модрисович Мачс** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория биосистематики и цитологии. ФГБУН «Ботанический институт им. В.Л. Комарова» РАН, Санкт-Петербург. SPIN: 9496-0538. E-mail: emachs@binran.ru.

**Юлия Владимировна Михайлова** — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория биосистематики и цитологии. ФГБУН «Ботанический институт им. В.Л. Комарова» РАН, Санкт-Петербург. SPIN: 4271-1072. E-mail: ymikhaylova@binran.ru.

**Александр Викентьевич Родионов** — д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник с возложением обязанностей заведующего лабораторией биосистематики и цитологии, ФГБУН «Ботанический институт им. В.Л. Комарова» РАН, Санкт-Петербург; профессор биологического ф-та, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. SPIN: 6206-2123. E-mail: avrodionov@mail.ru.

## ✿ Authors and affiliations

**Evgeniy A. Belyakov** — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Higher Aquatic Plants, Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS, pos. Borok, Yaroslavl Region, Russia; Cherepovets State University, Cherepovets, Russia. SPIN: 6944-1980. E-mail: eugenybelyakov@yandex.ru.

**Eduard M. Machs** — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Biosystematics and Cytology. Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 9496-0538. E-mail: emachs@binran.ru.

**Yulia V. Mikhailova** — Candidate of Biological Sciences, Researcher, Laboratory of Biosystematics and Cytology. Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 4271-1072. E-mail: ymikhaylova@binran.ru.

**Aleksandr V. Rodionov** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher with the Assignment of the Duties of the Head of the Laboratory of Biosystematics and Cytology, Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia; Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 6206-2123. E-mail: avrodionov@mail.ru.