

ИНФОРМАЦИОННЫЙ
ВЕСТНИК
ВОГиС

Том 12, № 4, декабрь 2008
www.bionet.nsc.ru/vogis/

Труды симпозиума

**“Генетические коллекции
и биоразнообразии возделываемых
растений: получение, изучение,
сохранение и хранение в вечной
мерзлоте”**

Новосибирск, Россия
27 июня 2008 г.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ВЕСТНИК ВОГиС, Том 12, № 4, декабрь 2008 г.

**www.bionet.nsc.ru/vogis/
<http://www.elibrary.ru/>
Рецензируемый научный журнал**

Учредители

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск
Вавиловское общество генетиков и селекционеров

Главный редактор

академик РАН *В.К. Шумный*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
тел.: (383) 3333526; факс: (383) 3331278; e-mail: shumny@bionet.nsc.ru

Заместители главного редактора

профессор *И.К. Захаров*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
тел.: (383) 3332906; факс: (383) 3331278; e-mail: zakharov@bionet.nsc.ru

академик РАН *Н.А. Колчанов*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
тел.: (383) 3333468; факс: (383) 3331278; e-mail: kol@bionet.nsc.ru

Редакционная коллегия

академик РАН *С.Г. Инге-Вечтомов*, Санкт-Петербургский государственный университет,
тел.: (812) 3281590; факс: (812) 3280541; e-mail: inge@SI2444.spb.edu; inge@mail333.com

академик РАН *С.В. Шестаков*, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
тел.: (495) 9393512; e-mail: shestakov@l.gen.bio.msu.ru

академик РАН *И.Ф. Жимулев*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
тел.: (383) 3301665; факс: (383) 3331278; e-mail: zhimulev@bionet.nsc.ru

профессор *В.Н. Стегний*, Томский государственный университет, тел.: (3822) 234261;
факс: (3822) 415616; e-mail: depcyt@bio.tsu.ru

Д.П. Фурман, д.б.н., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, тел. (383) 3332840;
факс (383) 3331278; e-mail: furman@bionet.nsc.ru

В.С. Коваль, к.б.н., Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, тел.: (383) 3301853;
факс: (383) 3331278; e-mail: kovalvs@bionet.nsc.ru

Материалы направлять по адресу:

Редакция журнала «Вестник ВОГиС», Институт цитологии и генетики СО РАН,
проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090
факс: (383) 3331278; e-mail: vestnik@bionet.nsc.ru

Регистрационное свидетельство ПИ № 77-1277 выдано Комитетом РФ по печати 20 декабря 1999 г.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

© Информационный вестник ВОГиС, 2008 г.

ИНФОРМАЦИОННЫЙ

**ВЕСТНИК
ВОГЧС**

ОСНОВАН В 1997 г.

Том 12

4

декабрь 2008

**ТРУДЫ СИМПОЗИУМА
«ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ И БИОРАЗНООБРАЗИЕ
ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ РАСТЕНИЙ: ПОЛУЧЕНИЕ,
ИЗУЧЕНИЕ, СОХРАНЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ
В ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЕ»**

**Новосибирск, Россия
27 июня 2008 г.**

Под редакцией д.б.н. Н.П. Гончарова

**Симпозиум проведен в рамках
Шестой международной конференции «Биоинформатика регуляции и структуры генома»
(BGRS'2008)**

Руководители симпозиума:

N. Watanabe, Университет г. Ибараки, Япония
Н.П. Гончаров, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Организаторы конференции

Сибирское отделение РАН
Институт цитологии и генетики СО РАН
Вавиловское общество генетиков и селекционеров
Институт вычислительных технологий СО РАН
Новосибирский государственный университет
Кафедра информационной биологии НГУ
PBSoft Ltd

Международный программный комитет конференции:

- | | |
|---|---|
| Н. А. Колчанов , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия (председатель) | В. Н. Кузнецов , Отделение анализа генома и экспрессии генов, Институт биоинформатики, Сингапур |
| Ralf Hofstaedt , Билефельдский Университет, Германия (сопредседатель) | М. М. Лаврентьев , Институт математики им. Соболева, Институт автоматки и электрометрии СО РАН, Новосибирск, Россия |
| Д. П. Фурман , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия (ученый секретарь) | С. Лукащук , Институт фундаментальной и прикладной математики, Университет Халла, Великобритания |
| Д. А. Афонников , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия | Kenji Mizuguchi , Группа биоинформатики и компьютерной биологии, Национальный институт биомедицинских инноваций, Осака, Япония |
| Shandar Ahmad , Национальный институт биомедицинских инноваций, Япония | Luciano Milanese , Институт биомедицинской технологии, Милан, Италия |
| Samir Brahmachari , Институт геномики и интегративной биологии, Дели, Индия | Ming Chen , Отделение биоинформатики, Чжецзянского университета, Ханьжоу, КНР |
| Philip Bourne , Калифорнийский университет Сан-Диего, США | М. П. Мошкин , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия |
| Е. И. Верещагин , Сибирский центр фармакологии и биотехнологии, Новосибирск, Россия | В. В. Пороиков , Институт биомедицинской химии РАМН, Москва, Россия |
| Е. Е. Витяев , Институт математики им. Соболева СО РАН, Новосибирск, Россия | Jagath S. Rajapakse , Школа компьютерной технологии, Наньянский технологический университет, Сингапур |
| В. В. Власов , Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия | И. Б. Рогозин , Национальный центр биотехнологической информации, Национальный институт здоровья, Бесезда, США |
| М. С. Гельфанд , Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия | Н. Б. Рубцов , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия |
| Б. М. Глинский , Институт вычислительной математики и математической геофизики СО РАН, Новосибирск, Россия | М. Г. Самсонова , Санкт-Петербургский политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия |
| Н. П. Гончаров , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия | Akinori Sarai , Институт технологии Кюсю (КИТ), Иизука, Япония |
| Л. А. Животовский , Институт общей генетики РАН, Москва, Россия | К. Г. Скрябин , Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия |
| А. С. Иванов , Институт биомедицинской химии РАМН, Москва, Россия | Н. Ю. Сурнина , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия |
| Manfred Kayser , Университет им. Эразма Роттердамского, Роттердам, Нидерланды | А. F. Famili , Университет Оттавы, Национальный научно-исследовательский совет Канады, Оттава, Канада |
| Ф. А. Кондрашов , Калифорнийский университет в Сан-Диего, США | Charlie Hodgman , Мультидисциплинарный центр интегративной биологии, Университет Ноттингема, Великобритания |
| А. В. Кочетов , Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия | |
| Jun-ichi Kudoh , Центр исследований Северо-Восточной Азии, Университет Тохоку, Япония | |

Содержание

ОТ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ К СОЗДАНИЮ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДОВ РАСТЕНИЙ В ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЕ <i>Н.П. Гончаров, В.К. Шумный</i>	509
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО ХОЛОДА МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ <i>Б.М. Кершенгольц, Б.И. Иванов, Р.В. Десяткин, П.А. Ремизайло, И.А. Федоров, Р.В. Чжан</i>	524
ПОДЗЕМНЫЕ ХРАНИЛИЩА В ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЕ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ <i>А.В. Брушиков</i>	534
ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ И СВЕРХНИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СЕМЯН ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ <i>Г.Ф. Сафина</i>	541
ГЕРБАРИЙ ТОМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА: ПРОШЛОЕ И НАСТОЯЩЕЕ <i>И.И. Гуреева</i>	548
СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ МИРОВОЙ ФЛОРЫ В СИБИРСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ТОМСКОГО ГОСУНИВЕРСИТЕТА <i>В.А. Морякина, Т.П. Свиридова, Т.Н. Беляева, Г.Я. Степанюк, В.П. Амельченко, Н.С. Зиннер</i>	555
СОХРАНЕНИЕ РЕДКИХ И ПОЛЕЗНЫХ РАСТЕНИЙ В КОЛЛЕКЦИИ <i>IN VITRO</i> ЦЕНТРАЛЬНОГО СИБИРСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА <i>Т.И. Новикова, А.Ю. Набиева, Т.В. Полубоярова</i>	564
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГНУ НИИ САДОВОДСТВА СИБИРИ ИМЕНИ М.А. ЛИСАВЕНКО И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ <i>В.В. Долганова, И.П. Калинина, О.В. Мочалова, И.А. Пучкин, В.И. Усенко</i>	573
СОЗДАНИЕ, СОХРАНЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА КОРМОВЫХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ИЦиГ СО РАН <i>А.В. Железнов, Н.В. Железнова, Н.В. Бурмакина, Н.С. Леонова, Р.С. Юдина</i>	580
ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В КОНТРОЛЕ РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОФОНДОВ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ <i>В.И. Глазко</i>	590
RAPD АНАЛИЗ ВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА РОДА ЧИНА <i>LATHYRUS L.</i> СЕМЕЙСТВА FABACEAE LINDL. <i>М.А. Вишнякова, М.О. Бурляева, Н.В. Алпатьева, Ю.В. Чесноков</i>	595
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ВНУТРИВИДОВЫЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КУЛЬТУР ВИДА <i>BRASSICA RAPA L.</i> ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ <i>А.М. Артемьева, Ю.В. Чесноков, Э. Клоке</i>	608
ДНК-МАРКЕРЫ ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM L.</i>) С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ <i>AEGILOPS SPELTOIDES TAUSCH</i> И <i>TRITICUM TIMORHEEVII ZHUK.</i> <i>Е.А. Салина, Е.М. Егорова, И.Г. Адонина, О.Б. Добровольская, Е.Б. Будашкина, И.Н. Леонова</i> ..	620

ТЕСТИРОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА В СОРТАХ И ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ МНОГОЛЕТНЕЙ ЛЮЦЕРНЫ	
<i>С.Э. Смоленская, Э.В. Квасова, О.Е. Редина</i>	629
GENETIC COLLECTION AND DEVELOPMENT OF NEAR-ISOGENIC LINES IN DURUM WHEAT	
<i>N. Watanabe</i>	636
МУТАНТНЫЙ ГЕНОФОНД ТОМАТА И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИОННО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	
<i>Н.И. Бочарникова</i>	644
ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА РЖИ В ГЕНОМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ МЕТОДОМ МЕЖГЕНОМНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ ХРОМОСОМ	
<i>О.Г. Силкова, А.И. Щапова, В.К. Шумный</i>	654
СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ АНЕУПЛОИДНЫХ И ЗАМЕЩЕН- НЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ	
<i>Т.Т. Ефремова, Л.И. Лайкова, В.С. Арбузова, О.М. Попова</i>	662
ОТДАЛЕННЫЕ СКРЕЩИВАНИЯ КАК ИСТОЧНИК УВЕЛИЧЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЕРНОВЫХ	
<i>Т.К. Тараканова, В.А. Соколов, Е.А. Абдырахманова, С.А. Блэки</i>	672
О БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ДОМЕСТИКАЦИИ ПШЕНИЦЫ	
<i>Р.Л. Богуславский</i>	680
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. ПО УСТОЙЧИВОСТИ К <i>BLUMERIA GRAMINIS</i> DC. F. SP. <i>TRITICI GOLOVIN</i>	
<i>Т.В. Лебедева</i>	686
ФЕРМЕНТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЯХ ПШЕНИЧНО- РЖАНЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ И РАЗНОГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ <i>×TRITORDEUM</i> <i>ASCHERSON ET GRAEBNER</i>	
<i>А.А. Коновалов, О.Г. Силкова, А.И. Щапова, Е.А. Моисеева, Е.Я. Кондратенко</i>	691
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОРТОВ ЛЬНА ТОМСКОЙ СЕЛЕКЦИИ	
<i>Г.А. Мичкина, Г.А. Попова, Ю.В. Чудинова, Н.А. Архипов</i>	698
ГЕНОФОНД ПЫРЕЯ СИЗОГО КАК ИСТОЧНИК РАСШИРЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ПШЕНИЦЫ	
<i>Е.П. Размахнин</i>	701
О ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ЯРОВЫХ РАСТЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, РЖИ И ТРИТИКАЛЕ	
<i>П.И. Степочкин, Г.В. Артемова</i>	710
МЕТОДОЛОГИЯ ФОРМИРОВАНИЯ БАЗ ДАННЫХ ПО СОРТАМ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ	
<i>В.В. Альт, П.Л. Гончаров, Н.А. Сурин</i>	717
КОНЦЕПЦИИ О ПРОИСХОЖДЕНИИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ИСТОРИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	
<i>А.В. Ефименко, И.К. Захаров</i>	726

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СУБЪЕДИНИЦЫ ГЛЮТЕНИНА У ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦ – ДОНОРОВ ИММУНИТЕТА К ГРИБНЫМ ИНФЕКЦИЯМ <i>Л.В. Обухова</i>	734
ТРИППИНГ И СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ У МНОГОЛЕТНИХ ВИДОВ ЛЮЦЕР- НЫ <i>MEDICAGO L.</i> ПРИ СВОБОДНОМ ЦВЕТЕНИИ И ОПЫЛЕНИИ <i>В.И. Коваленко, В.К. Шумный</i>	740
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ХОЛОДОВОГО РЕЦЕПТОРА <i>TRPM8</i> В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА <i>Т.А. Потапова, Н.С. Юдин, В.Н. Бабенко, И.В. Пилипенко, В.Ф. Кобзев, Л.А. Гырголькау, М.И. Воевода</i>	749
ПАМЯТИ В.А. МАККЬЮСИКА (1921–2008) <i>В.П. Пузырев</i>	755
АНАТОЛИЙ ФЕДОРОВИЧ МЕРЕЖКО (1940–2008) <i>О.П. Митрофанова</i>	759

Content

FROM PRESERVATION OF GENETIC COLLECTIONS TO ORGANIZATION OF NATIONAL PROJECT OF PLANT GENE POOLS' CONSERVATION IN PERMAFROST <i>N.P. Goncharov, V.K. Shumny</i>	509
USE OF PERMAFROST NATURAL COLD FOR LONG-TERM STORAGE OF GENETIC RESOURCES <i>B.M. Kershengolts, B.I. Ivanov, R.V. Desjatkin, P.A. Remigaylo, I.A. Fyodorov, R.V. Chzhan</i>	524
UNDERGROUND STORAGE IN PERMAFROST: A REVIEW <i>A.V. Brouchkov</i>	534
THE INFLUENCE OF LOW AND ULTRALOW TEMPERATURE ON VIABILITY OF FRUIT AND BERRY SEEDS <i>G.F. Safina</i>	541
HERBARIUM OF TOMSK UNIVERSITY: THE PAST AND THE PRESENT <i>I.I. Gureyeva</i>	548
PRESERVATION OF BIODIVERSITY OF THE WORLD FLORA IN SIBERIAN BOTANICAL GARDEN OF TOMSK STATE UNIVERSITY <i>V.A. Moryakina, T.P. Sviridova, T.N. Belyaeva, G.Ja. Stepanyuk, V.P. Amel'chenko, N.S. Zinner</i>	555
RARE AND USEFUL PLANTS' CONSERVATION IN THE <i>IN VITRO</i> COLLECTION OF CENTRAL SIBERIAN BOTANICAL GARDEN <i>T.I. Novikova, A.Yu. Nabieva, T.V. Poluboyarova</i>	564
GENETIC COLLECTIONS OF M.A. LISAVENKO SIBERIAN RESEARCH INSTITUTE OF HORTICULTURE AND THEIR APPLICATION IN BREEDING <i>Z.V. Dolganova, I.P. Kalinina, O.V. Mochalova, I.A. Puchkin, V.I. Usenko</i>	573
DEVELOPMENT, PRESERVATION, INVESTIGATION AND UTILIZATION OF THE GENE POOL OF FODDER AND MEDICINAL PLANTS AT THE INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS <i>A.V. Zheleznov, N.B. Zheleznova, N.V. Burmakina, N.S. Leonova, R.S. Yudina</i>	580
ESTIMATIONS OF POLYMORPHISM OF DIFFERENT GENOME ELEMENTS FOR CONTROLLING GENE POOLS OF CULTIVATED PLANTS <i>V.I. Glazko</i>	590

RAPD-ANALYSIS OF INTRAGENERIC POLYMORPHISM IN <i>LATHYRUS</i> L. FROM FABACEAE LINDL.	
<i>M.A. Vishnyakova, M.O. Burlyayeva, N.V. Alpatieva, Yu.V. Chesnokov</i>	595
GENETIC DIVERSITY AND INTRASPECIFIC PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF <i>BRASSICA RAPA</i> L. SPECIES CROPS BASED ON MICROSATELLITE ANALYSIS	
<i>A.M. Artemyeva, Yu.V. Chesnokov, E. Klocke</i>	608
DNA-MARKERS FOR GENOTYPING OF COMMON WHEAT (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) LINES WITH TRANSLOCATIONS FROM <i>AEGILOPS SPELTOIDES</i> TAUSCH AND <i>TRITICUM TIMOPHEEVII</i> ZHUK.	
<i>E.A. Salina, E.M. Egorova, I.G. Adonina, O.B. Dobrovolskaya, E.B. Budashkina, I.N. Leonova</i>	620
THE USE OF MOLECULAR MARKERS FOR POLYMORPHISM STUDY IN PERENNIAL ALFALFA POPULATIONS	
<i>S.E. Smolenskaya, E.V. Kvasova, O.E. Redina</i>	629
GENETIC COLLECTION AND DEVELOPMENT OF NEAR-ISOGENIC LINES IN DURUM WHEAT	
<i>N. Watanabe</i>	636
MUTANT TOMATO GENE POOL AND ITS USE IN GENETIC AND BREEDING PROGRAMS	
<i>N.I. Bocharnikova</i>	644
TRANSFER OF RYE GENETIC MATERIAL INTO THE COMMON WHEAT GENOME BY INTERGENOMIC CHROMOSOME SUBSTITUTION	
<i>O.G. Silkova, A.I. Shchapova, V.K. Shumny</i>	654
PRESERVING GENETIC DIVERSITY OF ANEUPLOID AND SUBSTITUTION LINES AND THEIR USE IN RESEARCH OF COMMON WHEAT	
<i>T.T. Efremova, L.I. Laikova, V.S. Arbuzova, O.M. Popova</i>	662
WIDE HYBRIDIZATION AS A SOURCE OF INCREASING CEREAL PLANT BIODIVERSITY	
<i>T.K. Tarakanova, V.A. Sokolov, E.A. Abdyrakhmanova, S.A. Blaky</i>	672
ABOUT MECHANISMS OF WHEAT DOMESTICATION	
<i>R.L. Bogoslavskiy</i>	680
GENETIC DIVERSITY OF COMMON WHEAT <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. FOR RESISTANCE TO <i>BLUMERIA GRAMINIS</i> DC. F. SP. <i>TRITICI</i> GOLOVIN	
<i>T.V. Lebedeva</i>	686
ENZYME POLYMORPHISM IN GENETIC COLLECTIONS OF THE RYE–WHEAT SUBSTITUTION LINES AND THE ACCESSIONS OF ×<i>TRITORDEUM</i> WITH DIFFERENT GENOME RATIOS	
<i>A.A. Konovalov, O.G. Silkova, A.I. Shchapova, E.A. Moisseeva, E.Ya. Kondratenko</i>	691
THE GENEPOOL OF FLAX CULTIVARS OF TOMSK SELECTION	
<i>G.A. Michkina, G.A. Popova, J.V. Chudinova, N.A. Arhipov</i>	698
THE GENE POOL OF <i>AGROPYRON GLAUCUM</i> AS A SOURCE FOR INCREASING COMMON WHEAT BIODIVERSITY	
<i>E.P. Razmakhnin</i>	701

ABOUT FACTORS INFLUENCING THE SPRING PLANTS APPEARANCE IN THE POPULATIONS OF WINTER WHEAT, RYE AND TRITICALE	
<i>P.I. Stepochkin, G.V. Artemova</i>	710
METHODOLOGY OF FORMING BARLEY AND WHEAT DATABASES	
<i>V.V. Alt, P.L. Goncharov, N.A. Surin</i>	717
CONCEPTS OF CULTIVATED PLANTS' ORIGIN IN HISTORICAL STUDIES	
<i>A.V. Efimenko, I.K. Zakharov</i>	726
HIGH MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNITS IN WHEAT ACCESSIONS SERVING AS FUNGAL INFECTION IMMUNITY DONORS	
<i>L.V. Obukhova</i>	734
TRIPPING AND SEED PRODUCTIVITY IN PERENNIAL SPECIES OF ALFALFA MEDICAGO L. UNDER OPEN POLLINATION AND FLOWERING	
<i>V.I. Kovalenko, V.K. Shumny</i>	740
POLYMORPHISM FOR THE COLD RECEPTOR GENE <i>TRPM8</i> IN ETHNIC GROUPS OF SIBERIA AND THE FAR EAST	
<i>T.A. Potapova, N.S. Yudin, V.N. Babenko, I.V. Pilipenko, V.F. Kobsev, L.A. Gyrgol'kau, M.I. Voevoda</i>	749
MEMORIZING V.A. McKUSICK (1921–2008)	
<i>V.P. Puzyrev</i>	755
ANATOLII FYODOROVICH MEREZHKO (1940–2008)	
<i>O.P. Mitrofanova</i>	759

ОТ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ К СОЗДАНИЮ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДОВ РАСТЕНИЙ В ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЕ

Н.П. Гончаров, В.К. Шумный

Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, e-mail: gonch@bionet.nsc.ru

Научно-исследовательские учреждения страны обладают репрезентативными коллекциями возделываемых растений, в том числе генколлекциями и рабочими коллекциями селекционеров. Эти коллекции, созданные в течение многих десятилетий упорного труда исследователей, имеют огромный потенциал как для фундаментальных, так и для прикладных исследований. В качестве примера рассматриваются коллекции, созданные и собранные в ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Заведенный в РФ порядок и используемая в исследовательских учреждениях страны методика и практика хранения этого уникального материала находятся на ненадлежащем уровне, не выработана стратегия долгосрочной сохранности коллекций. Экспериментальный материал, сборы экспедиций институтов и ботанических садов размещаются только на краткосрочное хранение, не способное обеспечить их жизнеспособность и сохранность для будущих поколений. В то же время в Сибири имеется опыт НИУ СО РАН по долгосрочному хранению семян в шахтах в вечной мерзлоте. Рассматриваются посылки, позволяющие надеяться на благоприятный исход проекта по созданию национальной системы хранения генофондов возделываемых растений в вечной мерзлоте.

Ключевые слова: генетические коллекции, генофонд растений, криохранение.

Эрозия генофонда возделываемых видов растений привела к тому, что в начале–середине XX столетия в большинстве стран с высоким уровнем развития сельскохозяйственного производства от сбора и сохранения зародышевой плазмы перешли к ее целенаправленному широкому вовлечению в селекционный процесс (Брежнев, 1978). При этом была поставлена основная задача – сделать доступным для селекционеров «...весь видовой, популяционный и сортовой генофонд необходимых возделываемых растений, созданный за 8–10 тысячелетий природой и человечеством на пяти континентах» (Жуковский, 1956а. С. 9). Следующей серьезной проблемой при селекции большинства сельскохозяйственных культур является их крайне узкое генетическое разнообразие. Ее решение связывают с вовлечением генетического материала диких сородичей и родственных видов, т. е. преодоление эрозии первичного генофонда за счет включения в него вторичного генофонда (рис. 1, а). Однако резкое

сокращение естественных ареалов таких потенциальных видов-доноров, а также сужение их полиморфизма вследствие поддержания в генбанках ограниченными, малыми по объему, популяциями не только приводит к эрозии уже их генофонда, но и уменьшает потенциальную возможность расширения биоразнообразия возделываемых видов. Задача – не потерять этот пул генов. Для его эффективного сохранения после интрогрессии из вторичного и/или третичного генофондов очень важны не только разработка методов репродукции и поддержания, но и выработка стратегии сохранения такого гибридного материала, часто цитогенетически нестабильного на первых этапах его получения и репродукции. Как ни странно, число интрогрессий невелико: за последние 20 лет только 9 признаков были перенесены в мягкую пшеницу из родственных видов (Hajar, Hodgkin, 2007). Кроме того, такие формы не имеют официального ботанического статуса и вследствие этого в любой момент

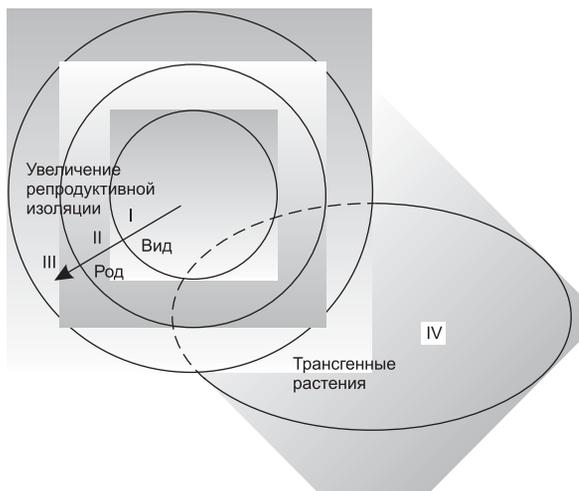


Рис. 1, а. Генные пулы (I–IV) возделываемых растений (из Harlan, De Wet, 1971 с изменениями по Gept, 2006 <http://www.plantsciences.ucdavis.edu>).

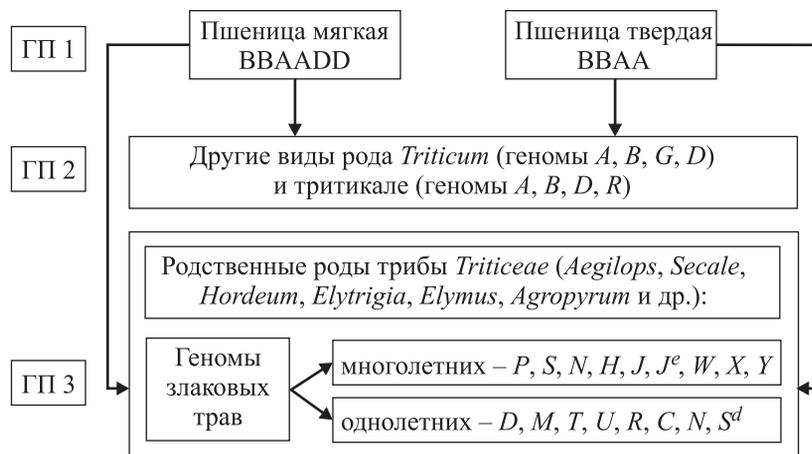
могут быть утеряны, а поэтому требуется создание механизма их регистрации, сохранения и поддержания.

Для уменьшения эрозии генофонда большинства сельскохозяйственно важных культур необходима разработка методов сбора и эффективного сохранения уже экспериментально созданного генетического и селекционного материала, который по тем или иным причинам не стал сортами, но был подвержен длительной селекционной проработке (экотипы, клоны, образцы и пр. из 1-го контрольного питомника) либо был создан экспериментально (мутанты, полиплоиды, трансгенные формы и т. д.). Кроме того, это позволит в случае изменения парадигм в аграрном секторе начинать селекцию в изме-

нившихся условиях или по новым параметрам «не с нуля». В этой связи важны осознание стратегии такой работы по сохранению пула генов (рис. 1, б), постановка теоретических и прикладных задач, решение которых будет способствовать расширению биоразнообразия возделываемых видов и как следствие прогрессу селекции будущего. Такое повышение агрономического и хозяйственного потенциала сельскохозяйственных культур возможно за счет привнесения дополнительной изменчивости, расширяющей генофонд селективируемых культур, получения цитогенетически стабильных форм, за счет мутантов, после интрогрессии чужеродного материала и т. д. Например, проблема сохранения уникальных по многим признакам так называемых «местных сортов» так и не была решена, хотя впервые и была поставлена на повестку дня еще в 1890 г. на конференции по гибридизации (von Proskowetz, 1890). Последний видел ценность этих сортов прежде всего в их относительном иммунитете к грибным заболеваниям и насекомым и указал на опасность их исчезновения. Пока думали, как их сохранять – они практически исчезли с лица земли (Удачин, Шахмедов, 1984), и только некоторые генбанки, такие, как ВИР (г. С.-Петербург), имеют в своих коллекциях сборы образцов, проведенные многочисленными экспедициями во всех странах света в 1920–1930-е гг., т. е. до появления и использования интенсивных систем возделывания в сельском хозяйстве этих стран (Пшеницы мира, 1976).

В настоящее время та же проблема возникла с генетическими коллекциями, хотя еще в 1958 г. на первом международном симпозиуме по ге-

Рис. 1, б. Пул генов пшениц включает разнообразие образцов-источников ценных для селекции признаков (схема любезно предоставлена А.Ф. Мережко).



нетике пшениц А.Т. Pugsley (1958) поставил вопрос о необходимости сохранения генетических коллекций. С тех пор уже 50 лет очевидно, что выделение и сбор фенетической (признаковой) коллекции возделываемых и диких видов, создание линий с известным генетическим контролем признаков, а также интрогрессивных линий являются гарантией сохранения их специфического пула генов для последующего использования в фундаментальных и прикладных целях (в аграрных технологиях будущего). Кроме того, они могут использоваться в качестве модельных объектов для самых различных экспериментов (Мережко и др., 1996; Смирнов, 2005).

Биоразнообразие и его доступность. Существовавшие много тысяч лет сельскохозяйственные цивилизации развивались обособленно, не имея товарного обмена между собой. Поэтому населяющие их народы могли использовать только аборигенные виды растений, не помышляя о широкой интродукции. Затем наступило время широкого обмена¹, в результате которого сложилась новая география возделываемых растений, карта сельскохозяйственных районов всех континентов резко изменилась, в результате чего возникли вторичные генетические центры возделываемых растений (Жуковский, 1970). «Искать в природе и в растениеводстве исходный материал в разных странах и у разных народов, собирать его, открывать новые и новые ресурсы, новые признаки, свойства и закономерности, мастерски и творчески использовать их в селекции – великая, прогрессивная и благородная задача» (Жуковский, 1956б. С. 161).

Однако возникла другая проблема – межгосударственные договоры и законодательства стран, на территориях которых сосредоточено произрастание доноров гермиплазмы для возделываемых растений, так называемых видов-сородичей, или родственных видов. Цель принятой ООН конвенции «О биологическом разнообразии» – «охранение биологического разнообразия, устойчивое использование его компонентов и совместное получение на справедливой и равной основе выгод, связанных с использованием генетических ресурсов, в том числе путем предоставления необходимого до-

ступа к генетическим ресурсам и путем надлежащей передачи соответствующих технологий с учетом всех прав на такие ресурсы и технологии, а также путем должного финансирования» Конвенция..., 1992. Статья 1). Однако за время, прошедшее с момента принятия в 1992 г. «Конвенции...», ни ООН, ни его подразделение ФАО уже не в состоянии обеспечивать свободный доступ всех государств ни к биоресурсам планеты, ни даже ко всему хранящемуся в международных генбанках биоразнообразию. Из представленных в табл. 1 результатов видно, что почти 10 % гермиплазмы, собранной в основных международных генбанках мира, уже не находится под юрисдикцией ФАО. Доступ к генофондам, хранящимся в национальных генбанках, ограничен – они стали «суверенной собственностью» этих стран (Конвенция..., 1992, статья 3). В ряде мест уже невозможно даже пройти по следам экспедиций Н.И. Вавилова или других «охотников за растениями» для сбора растительных ресурсов, так как их сбор и вывоз с территорий этих стран законодательно запрещен. В настоящее время в более или менее свободном доступе остались только генетические коллекции². Следовательно, стоит не менее благородная задача – сохранить весь материал, созданный в исследовательских лабораториях генетических институтов и селекционных центров. Это так называемые селекционные рабочие и генетические коллекции. Обсуждению вопросов их создания и использования были посвящены три сборника статей, изданные в ИЦиГ СО РАН (Генетические коллекции..., 1993–1995), и два сборника ВИНТИ (Общие проблемы..., 1982, 1983).

Признаковые (фенотипические) коллекции обычно формируются с использованием фенотипически различающихся форм. Они создаются на основе видовых и сортовых коллекций, как правило, хранящихся в генбанках или исследовательских учреждениях. Основой таких коллекций может стать набор сортов с четко выраженными, интересующими исследователя, признаками. В начале XX в. в ВИР выделялись «типовые коллекции» (Кузнецова, 1929; Пальмова, 1935), в последнее время их

¹ В 1495 г. до н. э. египетская царица Хатшепсут снарядила экспедицию в страну Пунт за благовонными деревьями, которые были высажены в саду Дейр-эль-Бахри.

² Под генетическими коллекциями обычно понимают материал с идентифицированным контролем тех или иных признаков (Смирнов, Соснихина, 1983).

Таблица 1

Число образцов важнейших сельскохозяйственных растений, хранящихся по состоянию на 2002 г. в различных генбанках мира (из: Алексанян, 2003)

Генбанк	Год организации	Основные сохраняемые культуры	Число образцов в коллекции	
			общее	под юрисдикцией ФАО
CIAT	1967	Фасоль, маниок, бобы, кормовые травы	60000	55584
SIMMYT	1966	Пшеница, кукуруза, тритикале	117000	115524
CIP	1971	Картофель, батат	13000	12582
ICARDA	1976	Пшеница, ячмень, бобовые, кормовые	115000	105086
ICRAF	1977	Сесбания	25	25
ICRISAT	1972	Сорго, просо, нут, каянус, арахис	114000	110096
ИТА	1967	Бобовые, кормовые	37000	25609
ILCA/ILTI	1974	Кормовые	13000	11537
INIBAR	1984	Бананы	1500	931
IRRI	1960	Рис	85000	80617
WARDA	1971	Рис	16000	14917
Всего образцов			585025	532508

стали называть «стержневые» (Фунтов, 1984), используя перевод термина О.Н. Frankel (1984) «core-collection» на русский язык.

Основные принципы создания и поддержания признаковых и генетических коллекций растений неоднократно рассматривались ранее (Смирнов, Соснихина, 1983; Гончаров, 1993; Коваль, 1993 и др.), поэтому ниже на них останавливаться не будем. В то же время нет общего взгляда на способы хранения исследовательских, признаковых, генколлекций и рабочих коллекций селекционеров, равно как нет и единого мнения, что является генетическими коллекциями (Смирнов, Соснихина, 1983). Тем не менее их желательно классифицировать (Гончаров, 2002), условно выделив интересующие нас следующие типы коллекций.

Коллекции видов чаще всего выступают как инструмент при обучении, как основа для формирования признаковых коллекций и как основа при таксономических и филогенетических исследованиях. При этом, например, ряд разновидностей *Triticum spelta* L. в настоящее время не сохранились в живом виде (Каталог..., 2004) даже в крупнейших генбанках мира, так как не было цели их специально поддерживать. Это связано не в последнюю очередь с тем, что таксономией возделываемых растений занимаются

в основном не в ботанических учреждениях.

Учебные коллекции используются, как правило, в высших учебных заведениях (Уколов и др., 2006), что вообще не предполагает их сохранения после окончания педагогического процесса тем или иным педагогом.

Исследовательские коллекции являются инструментом для генетических исследований. К ним можно отнести, например, реконструкцию происхождения *T. spelta* L. Такие коллекции имеют ограниченные сроки жизни, рассчитанные на завершение той или иной тематики или решение проблемы (рис. 2). Данный амфилоид в живом виде (*in vivo*) не сохранился ни в университете Миссури, где он был создан, ни в других учреждениях США.

В то же время, например, у полиплоидных видов исследовательскими коллекциями являются не только генетические и признаковые, но и коллекции линий-абберрантов, маркированных отсутствием целой хромосомы (нулли- и моносомии) или ее плеча (монотело- и дителосомии), присутствием хромосом в экстрадозах (три- и тетрасомии) и т. д. Создание моносомных линий мягкой пшеницы в бывшем СССР осуществлялось в основном в институтах прикладного характера: селекционно-генетическом институте (г. Одесса), НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов),



Рис. 2. Ресинтез *T. spelta* L. (MacFadden, Sears, 1946).

Амфилоид KU 222 (б), сорт Vernal *T. dicoccum* (а), *Ae. squarrosa* (в).

КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко (г. Краснодар), СибНИИСХ (г. Омск), КазНИИ земледелия им. В.Р. Вильямса (ныне НПЦ растениеводства и селекции, Алма-Атинская обл.) и др.

Коллекции аберрантов. В настоящее время коллекции анеуплоидов (рис. 3) в Западной Сибири поддерживаются в лабораториях хромосомной инженерии злаков (Ефремова и др., 2008), молекулярной генетики и цитогенетики растений, геномной инженерии и секторе генетики пшениц ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск); в лаборатории генетики СибНИИРС (Новосибирская обл.); кафедре генетики и селекции НГАУ (г. Новосибирск); лаборатории генетики СибНИИСХ (г. Омск). Всего в бывшем СССР было создано 14 моносомных серий (Гончаров, 1992). Они создавались для получения линий с межсортовым замещением хромосом для селекционных целей (Майстренко, 1972), так как считалось, что это быстрый и эффективный путь улучшения существующих сортов. Он получил название «селекция с ограниченной рекомбинацией». У тетраплоидных пшениц создание моносомных серий оказалось невозможным, и уже в ранних работах было показано, что моно- и нуллисом-

ные растения у тетраплоидных видов практически нежизнеспособны (Tsunewaki, 1964) либо обладают ограниченной жизнеспособностью и фертильностью (Motchizuki, 1968). В связи с этим были созданы наборы линий трисомиков (Simeone *et al.*, 1983), двойных дителосомиков (K. Nishikawa, личное сообщение) и геномнозамещенных линий с замещением индивидуальных линий с замещением индивидуальных хромосом А и В геномов таковыми D генома (Jorra, Williams, 1988). Для пшениц, генетика которых с 1950-х гг. развивалась исключительно с использованием методов анеуплоидного генетического анализа, в настоящее время в связи с переходом к молекулярно-генетическим исследованиям большое значение имеет наличие значительных по объему фен- и генколлекций.

Коллекция геномнозамещенных линий (рис. 4) поддерживается в Западной Сибири уже только в двух подразделениях ИЦиГ СО РАН: в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений и секторе генетики пшениц. Коллекция амфилоидов (рис. 5, 6) – уже только в одном. Из всех рукотворных амфилоидов исключение составляет только \times *Triticale* Müntzing (\times *Secalotriticum* Wittmack), возделываемая в настоящее время на значительных площадях и представленная в коллекциях многих генбанков мира.

По мнению ряда авторов, при «создании» мягкой пшеницы «природа использовала генетический потенциал родов *Triticum* L. и *Aegilops* L., не заботясь о подборе качественных исходных форм» (Мигушова, 1975. С. 3). Исследователи в состоянии попытаться исправить эту «ошибку природы». Поэтому изначально искусственные амфилоиды были созданы для того, чтобы получить генотипы растений с новыми комбинациями хозяйственно важных признаков (von Tschermak, Bleier, 1926; von Tschermak, 1930; Жуковский, 1944). Д. Костов (1940) предложил использовать искусственные амфилоиды для интрогрессии генов из диплоидных видов пшениц в гексаплоидные. Искусственные амфилоиды являются доступными источниками генов устойчивости к болезням (Зарубайло, Таврин, 1972; Лайкова и др., 2004) и других хозяйственно важных признаков (Lage *et al.*, 2005). Большинство амфилоидов из созданных Е. von Tschermak (von Tschermak, Bleier, 1926), О.Н. Сорокиной (1937а, б), А.Р. Жебраком (1957) и рядом других исследователей

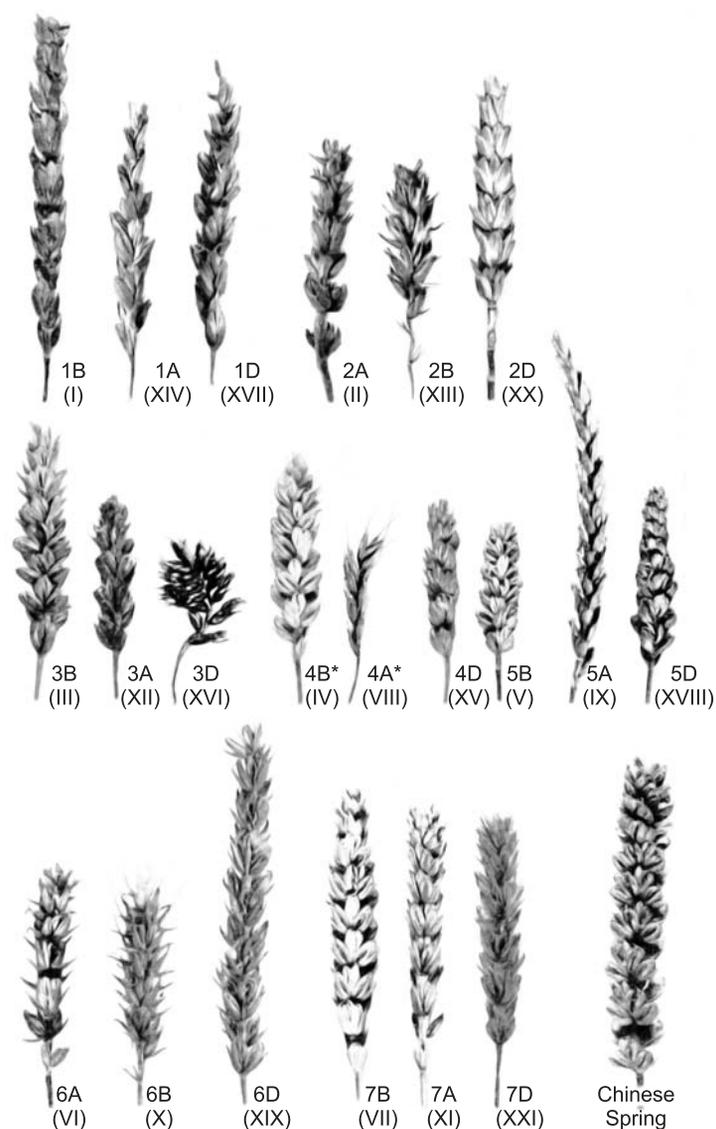


Рис. 3. Колосья моносомных растений самой широко используемой исследователями моносомной серии, созданной на основе сорта Chinese Spring (из: Sears, 1954).

утеряны. Часто их создание – долгосрочный проект. Описан случай, когда понадобилось более 15 поколений, чтобы стабилизировать мейоз у такого амфиплоида (Тапака, 1980). Сохранение рукотворных амфиплоидов как уникального генофонда безотносительно предполагаемых задач их дальнейшего использования в настоящее время является неотложной задачей, так как официально они выделены в отдельный раздел только в единственном в мире генбанке – в Университете г. Киото (Catalogue..., 1997/1998). Первый шаг в их сохранении – ботаническая «легализация», т. е. включение их в отдельную

секцию *Compositum* N. Gontsch. рода *Triticum* L. (Гончаров, 2002). Второй – внесение их в каталоги основных генбанков мира. Третий, наиболее простой, путь – заложить их на длительное хранение, пока решается второй вопрос. Правда, для этого необходимо создать структуру, отвечающую за долгосрочное хранение генетических коллекций.

Коллекции мутантов. Наиболее значимые коллекции мутантов получены на томатах (Жученко, 1973; Бочарникова, 2008). У пшениц наиболее значимая коллекция мутантов была создана на диплоидном виде *Triticum monococcum* L.

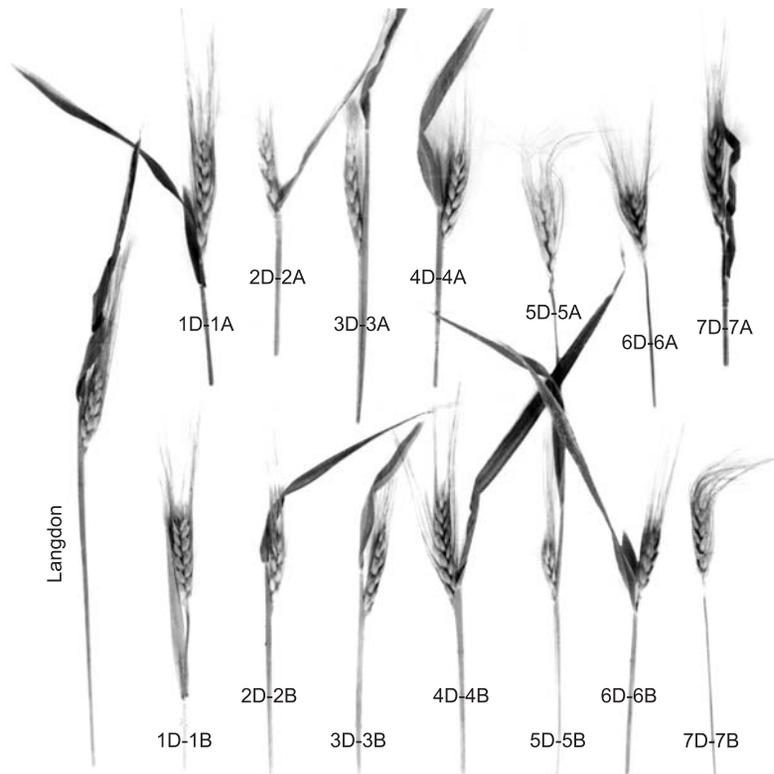


Рис. 4. Колосья геномзамещенных линий Langdon/Chinese Spring (из: Гончаров, 2002).



Рис. 5. Колосья рукотворных аллотетраплоидов.
а – *T. erebuni* Gandil. (геном DDA^aA^a). б – *T. boeoticotaushicum* Gandil. (геном A^bA^bDD), в – *T. palmovae* G. Ivanov (геном DDA^bA^b).

Рис. 6. Вид-диссидент *Triticum soveticum* Zhebrak, сохранившийся только в генетическом банке г. Киото.
а – KU 234 (автор – Т. Кавахара); б – KU 227 (автор – А.Р. Жебрак).

(Smith *et al.*, 1948). С ее использованием были определены все 7 групп сцепления у данной культуры (рис. 7). К сожалению, к настоящему времени сохранился из коллекции только один, самый скороспелый, мутант KU-104-1 в

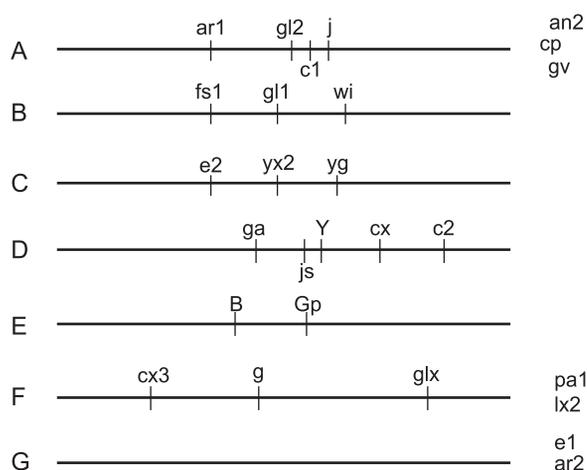


Рис. 7. Группы сцепления *T. monosocum* L. (из: Smith *et al.*, 1948).

коллекциях в Японии, и только потому, что на его основе К. Yamashita создал свою коллекцию мутантов. О существовании первой напоминает только генкарта (см. рис. 7).

Генетические коллекции ИЦиГ СО РАН. Генколлекция ячменя в ИЦиГ СО РАН поддерживается только в секторе генетических основ стрессоустойчивости растений, т. е. в одном из трех первоначально работавших с ней подразделений Института. Создана коллекция самофертильных гомостильных форм гречи (табл. 2). Более полная генколлекция этой культуры имеется только в МГУ. Генколлекция кукурузы в ИЦиГ СО РАН уже не поддерживается и в настоящее время имеется только в ВИР. Собирается коллекция модельного растения арабидопсиса. Еще одна коллекция этой культуры используется в учебных целях на кафедре генетики Биологического института Томского государственного университета. В табл. 2 представлен список материала, поддерживаемого и хранящегося в лабораториях ИЦиГ СО РАН.

Таблица 2

Фен- и генколлекции ИЦиГ СО РАН

Культура	Вид материала	Число образцов	Автор (держатель)	Примечание
Мягкая пшеница	Линии-абберранты сортов Саратовская 29 и Diamant II	200	О.И. Майстренко с сотр.	Лаб. хромосомной инженерии злаков
- « -	Линии-абберранты сорта Chinese Spring	Более 100	- « -	- « -
- « -	Замещенные линии	Более 50	- « -	- « -
- « -	Аллоплазматические рекомбинантные линии (<i>Hordeum vulgare</i> – <i>T. aestivum</i>)	20	Л.А. Першина	- « -
- « -	Аллоплазматические замещенные и дополненные линии (<i>Hordeum marinum</i> – <i>T. aestivum</i>)	15	- « -	- « -
- « -	Дополненные линии	Более 60	Е.А. Салина	Лаб. молекулярной генетики и цитогенетики злаков
- « -	Замещенные линии	12	- « -	- « -
- « -	Нулли-тетрасомные линии сорта Chinese Spring	42	- « -	- « -
- « -	Интрогрессивные линии от скрещивания <i>T. aestivum</i> × <i>T. timopheevii</i> , генотипированные SSR-маркерами	22	- « -	- « -
- « -	Интрогрессивные линии от скрещивания <i>T. aestivum</i> × <i>T. timopheevii</i> ¹	Около 40	Е.Б. Будашкина	- « -

Продолжение таблицы 2

Культура	Вид материала	Число образцов	Автор (держатель)	Примечание
Мягкая пшеница	Межродовые замещения пшеница-рожь	12	А.И. Щапова	Лаб. молекулярной генетики и цитогенетики злаков
- « -	Дополненные линии	7	А.В. Вершинин	Лаб. эпигенетики развития
- « -	Изогенные линии	Более 50	С.Ф. Коваль	Сектор генетических основ стрессоустойчивости растений
- « -	- « -	16	В.С. Арбузова	Лаб. хромосомной инженерии злаков
- « -	Изогенные иммунные линии	11	Л.И. Лайкова	- « -
- « -	Линии-абберранты	90	Н.П. Гончаров	Сектор генетики пшениц
- « -	Коллекция профенотипированных образцов	500	- « -	- « -
- « -	Коллекция амфиплоидов	53	- « -	- « -
- « -	Линии с делециями	105	- « -	- « -
Твердая пшеница	Геномзамещенные линии Langdon/Chinese Spring	14	- « -	- « -
- « -	Изогенные линии	10	- « -	- « -
- « -	Генколлекция	300	- « -	- « -
Полба	Изогенные линии	2	- « -	- « -
<i>T. monosocum</i>	Коллекция профенотипированных образцов	284	Е.Я. Кондратенко	- « -
<i>T. urartu</i>	- « -	267	- « -	- « -
<i>T. boeoticum</i>	- « -	47	- « -	- « -
Гречиха	Самофертильные гомостильные формы	240	В.И. Коваленко	Лаборатория генофондов и генетики систем размножения растений
Люцерна	Самофертильные клоны	140	В.И. Коваленко	- « -
- « -	Самоопыленные линии 54-х поколений	Более 3000	Е.В. Квасова	Лаборатория биоинженерии растений
Арабидопсис	Генколлекции	50–100	В.С. Коваль	Сектор генетических основ стрессоустойчивости растений
Ячмень	- « -	~ 500	- « -	- « -
<i>Ae. speltoides</i>	Маркированные линии	39	Е.А. Салина	Лаб. молекулярной генетики и цитогенетики злаков
Картофель	Линии с 3 конструкциями	10	А.В. Кочетов	Лаб. геномной инженерии
Табак	Линии с различными генетическими конструкциями	40	- « -	- « -
- « -	Трансгенные линии	146	Е.В. Дейнеко	Лаборатория биоинженерии растений
- « -	Полиплоиды	4	- « -	- « -

Окончание таблицы 2

Культура	Вид материала	Число образцов	Автор (держатель)	Примечание
Кукуруза	Мейотические мутанты	20	Н.В. Шамина	Лаборатория биоинженерии растений
- « -	Гибриды кукурузы с трипсакум (гамаграссом) $2n = 56$ (20 Zm+36Td), $2n = 38$ (20 Zm + 8Td), $2n = 39$ (30 Zm + 9 Td)	20	В.А. Соколов	Лаб. цитологии и апомиксиса растений
Горох	Мутанты	Более 1000	К.К. Сидорова	Сектор генетики мутаций и мутационного процесса
- « -	Мейотические мутанты	8	Н.В. Шамина	Лаборатория биоинженерии растений
- « -	Изогенные линии	20	О.Э. Костерин	Сектор экспериментального моделирования эволюционных процессов
- « -	Трисомные линии	4	- « -	- « -
- « -	Лабораторные линии	Около 40	- « -	- « -
- « -	Рекомбинантные инбредные линии	89	- « -	- « -
- « -	Коллекция профенотипированных образцов	870	- « -	- « -
Чина	Изогенные линии	2	- « -	- « -
Чечевица	- « -	2	- « -	- « -
Кормовые травы ²	Фенколлекция	2482	А.В. Железнов	Лаборатория генофондов и генетики систем размножения растений

Примечание. ¹ имеется патент на способ получения (Патент, 1998), ² видовое разнообразие см. А.А. Железнов и др. (2008).

Состав генколлекций. Из представленных в табл. 2 данных видим, что в Институте собраны и созданы фен- (признаковые) и генетические коллекции по морфологическим, физиологическим и биохимическим признакам на самых разных культурах (в том числе линии-аналоги и изогенные линии, созданные на основе одного сорта). Имеется значительное число линий с генами, интрогрессированными из родственных видов. В настоящее время из всех имеющихся в Институте генколлекций видов возделываемых растений в мировую коллекцию ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (г. С-Петербург) переданы и включены в основной каталог только 40 изогенных линий мягкой пшеницы сорта Новосибирская 67 (Коваль, 1997).

Рабочие коллекции селекционеров и селекционных НИУ. В ИЦиГ СО РАН, а также

в селекционных учреждениях сибирского региона накоплен созданный поколениями селекционеров богатейший исходный материал. Одна его самая малая часть находится в постоянной проработке, другая долгие годы хранится, нередко оставаясь за пределами внимания следующего поколения селекционеров, теряет всхожесть и обезличивается, третья передается в другие учреждения. Однако четкой системы нет: каждый селекционер создает материал и использует его по своему усмотрению. Районированные и переданные в государственное сортоиспытание сорта с конца 1920-х гг. поступают в обязательном порядке в коллекции профильных отделов ВИР. Другие же («почти сорта»), и их гораздо больше, остаются только достоянием их авторов. Поэтому вопрос о порядке сбора, сохранения, регистрации и

последующем распространении этого материала требует широкого публичного обсуждения. Вероятно, такому материалу необходимо придать статус рабочих селекционных коллекций, сохранив за ним авторское право учреждения и каждого исследователя, создавшего такой материал. При этом сохраняемые коллекции селекционеров, так же с соблюдением авторского права, должны быть внесены в общедоступные базы данных, равно как получаемые сведения, которые нередко остаются в полевых журналах, часто даже недостаточно проанализированные. Собираемые из года в год материал и семена накапливаются в лабораториях и на складах, при этом немалая часть этого богатства со временем теряет всхожесть, другая – обезличивается после достаточно жесткой с точки зрения практической селекции выбраковки. При этом все это достояние, представляющее собой неоценимый фонд, в который вложен труд поколений селекционеров и над которым немало потрудились природа, теряется. В то же время даже разные экотипы одного и того же вида – не меньшая ценность, чем сорта, получившие путевку в производство через Госсортосеть. В ИЦиГ СО РАН В.М. Чекуров с сотрудниками с использованием гибридов мягкой пшеницы с ППГ (пшенично-пырейными гибридами) создал ряд морозостойких сортов, из которых Багратионовка в настоящее время является стандартом данного признака (Чекуров, Сергеева, 1976). Ни эти гибриды, ни коллекция самофертильных форм пырея *Agropyron glaucum* (Desf.) Roem. et Schults. А.М. Орловой (1997) в ИЦиГ не сохранились, и Е.П. Размахнин создает коллекцию заново. Утеряно также значительное число амфиплоидов пшениц (Шкутина, Хвостова, 1971), тетраплоиды кукурузы (Шумный, 1964), смородино-крыжовниковые гибриды (Щапов, Привалов, 1974) и др.

Сравнение отечественных яровых сортов мягкой пшеницы двух периодов селекции – до и после 1960 г. – позволило выявить изменения в генетическом разнообразии как количественного (снижение индекса генетического разнообразия и числа микросателлитных аллелей у современных сортов по сравнению со стародавними), так и качественного (примерно одна треть аллелей стародавних сортов замещаются новыми аллелями в более позднем сорimente) характера

(Хлесткина и др., 2004). Высокая встречаемость микросателлитных аллелей сорта Саратовская 29 в генофонде сортов периода селекции после 1960 г. указывает на то, что интенсивное использование данного сорта в скрещиваниях при получении новых сортов могло явиться одной из основных причин наблюдаемого снижения уровня генетического разнообразия современных сортов бывшего СССР.

Таким образом, если задача сохранения генколлекций наиболее просто решается целенаправленным сбором, инвентаризацией и их последующим сохранением в генбанках, то создание потенциальной возможности включения их пула генов в генофонд возделываемых видов полностью зависит от вышперечисленных мероприятий. Создание такого «запаса» генов, в том числе контролирующих хозяйственно важные признаки – устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам, адаптивность и пр., а также и другие, нехарактерные для возделываемых видов, но потенциально значимые при изменении направлений селекции морфологические признаки – наиболее рациональный путь сохранения их биоразнообразия с утилитарными целями. Такие цели и должны быть поставлены. В противном случае титанический труд поколений исследователей пропадет безвозвратно.

Проведение дальнейших исследований по созданию, каталогизации и сохранению генетических коллекций позволит:

- 1) каталогизировать фен- и генколлекции в базе данных, которая будет доступна через Интернет;
- 2) выработать стратегию сохранения и использования пула генов диких сородичей в виде гибридогенного генофонда;
- 3) разработать методические основы для поддержания признаковых и генетических коллекций, в том числе и в виде изогенных линий;
- 4) усовершенствовать способы получения новых форм, которые могут быть использованы в программах по сохранению биоразнообразия соответствующих видов;
- 5) создать банк(и) образцов с идентифицированными генами.

В настоящее время никто не сможет повторить классические эксперименты Ю.А. Филипченко (1979), так как в ВИР чистые линии, на которых они были выполнены, не сохранились. Бо-

лее того, коллекции чистых линий ни в одном банке мира не поддерживаются, хотя Р.Э. Регель (1915) считал их совершенно уникальным инструментом для многих растениеводческих исследований.

Где хранить и как хранить гермиплазму?

Частично ответ на этот вопрос дают представленные в данном выпуске «Информационного вестника ВОГиС» статьи Б.М. Кершенгольца с соавт. (2008), А.В. Брушкова (2008) и Г.Ф. Сафиной (2008). Природа частично решила проблему длительного хранения растений, «включив» в их онтогенез элемент консервации – покоящиеся семена. В идеальном случае включение образца в любую коллекцию должно сопровождаться закладкой его на долгосрочное (в идеале «вечное») хранение в качестве эталона (Коваль, 1993). Даже потеряв всхожесть, такой эталон может использоваться через много лет для анализа и сравнения с его потомством. Уже в настоящее время методы выделения и анализа ДНК позволяют это делать.

В странах единой Европы создано криохранилище гермиплазмы на о. Шпицберген (Норвегия). Однако Россия не имеет легитимного доступа к собранным в нем генофондам. В РФ также требуется создание специально оборудованных хранилищ подобного типа для длительного хранения гермиплазмы растений. Наиболее подходящими для их создания являются подземные шахты в вечной мерзлоте в г. Ямбурге (Тюмень) и г. Якутске (Республика Саха). При этом желательно коренным образом реорганизовать и инфраструктуру хранения не только генетических и рабочих коллекций, но и генофонда возделываемых растений в РФ, реализовав на базе институтов СО РАН и СО РАСХН проект «Создание национальной системы долгосрочного хранения в вечной мерзлоте генофонда возделываемых растений, их сородичей, генетических коллекций и селекционного материала».

Цель данного проекта – обеспечение будущих поколений разнокачественной гермиплазмой возделываемых растений для аграрных технологий будущего. К первоочередным вопросам относятся:

1) организация системы инвентаризации и паспортизации фен- и генколлекций, созданных и/или хранящихся в НИУ РФ;

2) создание компьютерной базы данных, обеспечивающей эффективное описание коллекций и

публичный доступ к данной информации;

3) создание и поддержание инфраструктуры для эффективного хранения генетических коллекций и генофонда возделываемых растений и их сородичей;

4) разработка методов оптимального длительного хранения генресурсов на базе Института мерзлотоведения СО РАН и Якутского НИИСХ СО РАСХН и Института криосферы Земли СО РАН.

Таким образом, остро стоящая в настоящее время в связи с энергетическими проблемами и возможностью голода на значительных территориях проблема эффективного долгосрочного сохранения всего биоразнообразия возделываемых растений, их сородичей, генетических коллекций и перспективного селекционного материала для обеспечения будущих поколений россиян надежным разнокачественным генофондом возделываемых растений для аграрных технологий будущего и фундаментальных исследований может быть успешно решена.

Благодарности

Работа частично финансировалась по программам Президиума РАН № 25 подпрограммы II «Проблемы эволюции биосферы» и № 11.9 «Биоразнообразие и динамика генофондов». Авторы считают своим долгом поблагодарить к.б.н. Л.И. Лайкову, О.Г. Силкову и С.Э. Смоленскую за полезное и конструктивное обсуждение.

Литература

- Алексян С.М. Государство и биоресурсы. СПб.: ВИР, 2003. 180 с.
- Бочарникова Н.И. Мутантный генофонд томата и его использование в селекционно-генетических исследованиях // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 644–653.
- Брежнев Д.Д. Национальный генофонд растений СССР для селекции // ИНТ ВИНТИ АН СССР. Сер. Общая генетика. 1978. Т. 1. Генетика и селекция сельскохозяйственных растений. С. 5–87.
- Брушков А.В. Подземные хранилища в вечной мерзлоте: современное состояние // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 535–540.
- Генетические коллекции растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. Вып. 1. 187 с.
- Генетические коллекции растений. Новосибирск:

- ИЦиГ СО РАН, 1994. Вып. 2. 210 с.
- Генетические коллекции растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1995. Вып. 3. 250 с.
- Гончаров Н.П. Локализация генов у мягкой пшеницы. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1992. 150 с.
- Гончаров Н.П. Генетические коллекции пшеницы: длина вегетационного периода // Генетические коллекции растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. Вып. 1. С. 54–81.
- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сиб. универ. изд-во, 2002. 252 с.
- Ефремова Т.Т., Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Попова О.М. Сохранение генетического разнообразия анеуплоидных и замещенных линий и их использование в исследованиях мягкой пшеницы // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 622–671.
- Жебрak А.Р. Полиплоидные виды пшениц. М.: Изд-во АН СССР, 1957. 125 с.
- Железнов А.А. Создание, сохранение, изучение и использование генофонда кормовых и лекарственных растений в ИЦиГ СО РАН // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 580–589.
- Жуковский П.М. Этюды в области гибридизации, имунитета и трансплантации растений // Тр. МСХА им. К.А. Тимирязева. 1944. Т. 6. С. 3–48.
- Жуковский П.М. Введение (об отечественных и пришлых зарубежных культурных растениях в СССР // Материалы по истории земледелия СССР. М.; Л.: Наука, 1956а. С. 5–15.
- Жуковский П.М. Значение мировых коллекций Всесоюзного института растениеводства в общих и частных проблемах селекции // Ботан. журнал. 1956б. Т. 41. № 2. С. 161–171.
- Жуковский П.М. Мировой генофонд растений для селекции (мегагенцентры и эндемичные микрогенцентры). Л.: Наука, 1970. 88 с.
- Жученко А.А. Генетика томатов. Кишинев: Штиинца, 1973. 664 с.
- Зарубайло Т.Я., Таврин Э.В. Новые аллогексаплоиды пшеницы, их плодовитость и устойчивость к болезням // Науч.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства. 1972. Вып. 24. С. 30–34.
- Каталог мировой коллекции ВИР. Редкие виды пшеницы. Генетическое разнообразие коллекции пшеницы спельты (*Triticum spelta* L.). СПб.: ВИР, 2004. Вып. 752. 78 с.
- Кершенгольц Б.М., Иванов Б.И., Десяткин Р.В. и др. Использование естественного холода многолетнемерзлых пород для длительного хранения генетических ресурсов // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 524–533.
- Коваль С.Ф. Некоторые проблемы генетических коллекций растений // Генетические коллекции растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. Вып. 1. С. 6–38.
- Коваль С. Ф. Каталог изогенных линий сорта мягкой пшеницы Новосибирская 67 и принципы их использования в эксперименте // Генетика. 1997. Т. 33. С. 1168–1173.
- Конвенция о биологическом разнообразии. Рио-де-Жанейро, 1992. <http://www.un.org/russian/document/convents/biodiv.htm>
- Костов Д. Происхождение и селекция пшениц с цитогенетической точки зрения // Изв. АН СССР. Отд. биол. наук. 1940. № 1. С. 56–94.
- Кузнецова Е.С. Географическая изменчивость вегетационного периода культурных растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1929. Т. 21. Вып. 1. С. 321–446.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Создание иммунных линий сорта Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к грибам бурой ржавчины и мучнистой росы // Генетика. 2004. Т. 40. № 5. С. 631–635.
- Майстренко О.И. Перспективы использования анеуплоидии в генетике и селекции пшеницы // Селекция и семеноводство. 1972. № 3. С. 15–19.
- Мережко А.Ф., Митрофанова О.П., Зуев Е.В. О создании генетической коллекции пшеницы // Селекция и семеноводство. 1996. № 3/4. С. 2–9.
- Мигушова Э.Ф. К вопросу о происхождении геномов пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1975. Т. 55. Вып. 3. С. 3–26.
- Общие проблемы биологии. Методы и объекты биологических исследований (Генетические коллекции микроорганизмов). М.: ВИНТИ, 1982. Т. 1.
- Общие проблемы биологии. Методы и объекты биологических исследований (Генетические коллекции растений). М.: ВИНТИ, 1983. Т. 2. 177 с.
- Орлова А.М. К вопросу о получении самофертильных форм от самостерильных растений (на примере пырея сизого) // С.-х. биология. 1997. № 1. С. 101–103.
- Пальмова Е.Ф. Введение в экологию пшениц. М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. 75 с.
- Патент на изобретение № 2138155 от 19.03.1998. Способ создания интрогрессивных линий мягкой пшеницы, устойчивых к болезням / Будашкина Е.Б., Калинина Н.П.
- Пшеницы мира / Под ред. Д.Д. Брежнева. Л.: Колос, 1976. 487 с.
- Регель Р.Э. Организация и деятельность Бюро по прикл. ботанике за первое двадцатилетие его существования (27 окт. 1894 – 27 окт. 1915) // Тр. Бюро по прикл. ботанике. 1915. Т. 8. № 4/5. С. 327–723. № 12. С. 1465–1637.
- Сафина Г.Ф. Влияние низких и сверхнизких температур на жизнеспособность семян плодовых и

- ягодных растений // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 541–547.
- Смирнов В.Г., Соснихина С.П. Генетические коллекции растений и их использование // ИНТ ВИНТИ СССР. Сер. Общие проблемы биологии. М., 1983. Модели и объекты биологических исследований (Генетические коллекции растений). Т. 2. С. 3–27.
- Смирнов В.Г. Значение генетических коллекций для фундаментальных исследований // Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб.: ВИР, 2005. С. 783–806.
- Сорокина О.Н. Новые эгилопно-пшеничные амфидиплоиды // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1937а. Сер. II. № 7. С. 161–173.
- Сорокина О.Н. Плодовитый и константный 42-хромосомный гибрид *Ae. ventricosa* Tausch × *T. durum* Desf. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1937б. Сер. II. № 7. С. 5–12.
- Удачин Р.А., Шахмедов И.Ш. Пшеница в Средней Азии. Ташкент: ФАН, 1984. 136 с.
- Уколов А.А., Хуапария Т.И., Рубец В.С., Соловьев А.А. Определитель зерновых, зернобобовых культур и кормовых трав. (Метод. пособие). М.: Изд-во РГАУ–МСХА, 2006. 44 с.
- Филипченко Ю.А. Генетика мягких пшениц. 2-е изд. М.: Наука, 1979. 311 с.
- Фунтов К.А. Эффективность некоторых методов формирования стержневых коллекций на примере пшеницы – полбы // Науч.-техн. бюл. ВНИИР им. Н.И. Вавилова, 1998. Вып. 236. С. 40–44.
- Хлесткина Е.К., Салина Е.А., Шумный В.К. Генотипирование отечественных сортов мягкой пшеницы с использованием микросателлитных (SSR) маркеров // С.-х. биология. 2004. № 5. С. 44–52.
- Чекуров В.М., Сергеева С.И. Значение родительских компонентов в скрещивании мягкой пшеницы с клонами пырея сизого *Agropyron glaucum* (Desf.) // Генетика. 1976. Т. 12. № 3. С. 153–155.
- Шкутина Ф.М., Хвостова В.В. Цитогенетический анализ амфидиплоидов, полученных от скрещивания *Triticum timopheevi* с другими видами // Генетика. 1971. Т. 7. № 1. С. 5–15.
- Шумный В.К. Экспериментально полученные тетраплоиды кукурузы // Докл. АН СССР. 1964. Т. 154. № 2. С. 445–448.
- Щапов Н.С., Привалов Г.Ф. Восстановление фертильности у стерильного смородино-крыжовникового гибрида в результате предмейотической обработки генеративных почек колхицином // Генетика. 1974. Т. 10. № 10. С. 27–32.
- Catalogue of *Aegilops-Triticum* germ-plasm preserved in Kyoto University. Kyoto: Plant Germ-Plasm Institute, 1997/1998. № 2. 309 p. (with Supplement. 41 p.).
- Frankel O.H. Genetic perspective of germplasm conservation // Genetic manipulation: Impact on Man and Society / Eds W.K. Arber, K. Llimensee, W.J. Peacock, P. Starlinger. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1984. P. 161–170.
- Joppa L.R., Williams N.D. Longdon durum disomic substitution lines and aneuploid analysis in tetraploid wheat // Genome. 1988. V. 30. P. 222–228.
- Hajar R., Hodgkin T. The use of wild relatives in crop improvement: a survey of development over the last 20 years // Euphytica. 2007. V. 156. P. 1–13.
- McFadden E.S., Sears E.R. The origin of *Triticum spelta* and its free threshing hexaploid relatives // J. Hered. 1946. V. 37. P. 107–116.
- Mochizuki A. The monosomics of durum wheat // Proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Symp. / Eds K.W. Findlay, K.W. Shepherd. Austr. Acad. Sci. Canberra, 1968. P. 310–315.
- Proskowetz E. von. Welches Werthverhältniss besteht zwischen den Landrassen landwirthschaftlicher Culturpflanzen und den sogenannten Züchtungsrasen? // Intern. land- und forstwirthschaftlicher Congress zu Wien 1890. Section I. Landwirthschaft. Subsection: Pflanzenbau. 1890. Frage 5. Heft 13. S. 3–18.
- Pugsley A.T. The preservation of world genetic stocks // Proc. of the 1st Intern. Wheat Genet. Symp. Winnipeg, Canada. 1958. P. 140–142.
- Sears E.R. The aneuploids of common wheat // Mo Agric. Exptl. Sta. Res. Bull. 1954. № 572. P. 1–58.
- Simeone R., Blanco A., Giorgi B. The primary trisomics of durum wheat (*Triticum durum*) Desf. // Proc. 6th Intern. Wheat Genet. Symp. Kyoto, 1983. P. 1103–1107.
- Smith L., Moseman A.H., Payne K.T., Weibel D.E. Linkage studies in einkorn // J. Amer. Soc. Agron. 1948. V. 40. № 10. P. 862–873.
- Tanaka M. Genome analysis // Plant genetics. I. Cell division and cytogenetics / Ed. K. Yamashita. 1980. P. 229–261. (In Japanese).
- Tschermak E. von. Neue Beobachtungen am fertilen Artbastard *Triticum turgidovillosum* // Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. 1930. Bd. 48. № 9. S. 400–402.
- Tschermak E. von, Bleier H. Über fruchtbare *Aegilops*-Weizenbastarde (Beispiele für die Entstehung neuer Arten durch Bastardierung) // Berichte der Deutsch. Botan. Gesellschaft. 1926. Bd. 44. H. 2. S. 110–132.
- Tsunewaki K. Transmission of monosomes and trisomes in an Emmer wheat, *T. dicoccum* // Wheat Inform. Serv. 1964. № 17/18. P. 34–35.
- Weissmann S., Feldman M., Gressel J. Sequence evidence for sporadic intergeneric DNA introgression from wheat into a wild *Aegilops* species // Mol. Biol. Evol. 2005. V. 22 (10). P. 2055–2062.

**FROM PRESERVATION OF GENETIC COLLECTIONS TO ORGANIZATION
OF NATIONAL PROJECT OF PLANT GENE POOLS' CONSERVATION
IN PERMAFROST**

N.P. Goncharov, V.K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: gonch@bionet.nsc.ru

Summary

Russian Research Institutes have got representative collections of cultivated plants including genetic and breeding collections which are the results of research works of decades. Collections made in the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk are viewed as an example. Course of dealing in Russia and methodology and practice of preservation of this unique material used in Russian research institutes has not been brought up to standard yet. The strategy of their long-term conservation is not worked out. Experimental material, collection picked by expeditions of institutes and botanical gardens are placed only for short-term preservation. This way it is impossible to provide their vitality and keep them for future generations. Also there are underground mines in permafrost in Siberia and Research Institutes of SB RAS have the experience of long-term conservation of seeds there. The reasons which promise favourable outcome of the project of organization of National system of gene pools' conservation are viewed.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО ХОЛОДА МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ

Б.М. Кершенгольц¹, Б.И. Иванов¹, Р.В. Десяткин¹, П.А. Ремигайло¹,
И.А. Федоров¹, Р.В. Чжан²

¹ Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия,
e-mail: kerschen@asrs.ysn.ru; ² Институт мерзлотоведения СО РАН, Якутск, Россия

Исследовано влияние круглогодично стабильных отрицательных температур ($-6 \div -8$ °С), создаваемых в толще многолетнемерзлых грунтов только за счёт естественного холода, на физиологические и цитолого-биохимические характеристики семян зернобобовых культур, хранящихся в данных условиях в течение около 30 лет. Анализ показателей функциональной активности генома указывает на физиологичность процессов гипобиоза в семенах в данных условиях криохранения, сохранность всхожести на уровне 95–100 % при уровне хромосомных aberrаций всего около 1–4 %. В то же время хранение семян гороха из коллекции ВНИИР в стандартных условиях (г. Крымск, Екатеринбург, Михнево) в течение 11–13 лет приводит к снижению всхожести до 50–80 %, при уровне хромосомных aberrаций до $6 \div 28$ %, а при их хранении в течении 28–31 года – к полной потере всхожести.

Проведен анализ различных способов длительного хранения генетических ресурсов и сделан вывод об оптимальности способа криохранения в слое многолетнемерзлых грунтов на Северо-Востоке России по таким критериям, как максимальная экономическая рентабельность и биологическая эффективность, надежность и защищенность от различных природных и техногенных катастроф, минимизация трудозатрат. Предложен проект создания Международного криобанка генетических ресурсов с использованием «бесплатного и надежного природного холода» многолетнемерзлых грунтов и сформулированы направления его деятельности.

Ключевые слова: семена растений, генетические ресурсы, длительное хранение, многолетнемерзлые грунты.

Последствия исчезновения генетических ресурсов растений и животных в связи с разрушением мест их обитания ощущаются уже в настоящее время. По прогнозам специалистов, к 2015 г. биологическое разнообразие планеты может сократиться на 10 % (Bradtz, 1997). По прогнозам Международного союза охраны природы (МСОП) и Международного фонда охраны природы (МФОП), к середине XXI в. 60 тыс. видов высших растений, т. е. 1/4 общего числа видов в мире, могут оказаться под угрозой исчезновения или серьезной генетической эрозии. Непрогнозируемый ущерб видовому разнообразию растений и животных могут нанести глобальные изменения климата, а также техногенные катастрофы, включая ядерные,

химические, бактериологические. В настоящее время следует уделять особое внимание 50 тыс. видов, из которых 20 тыс. находятся под угрозой исчезновения, 15 тыс. потенциально могут стать исчезающими и еще 15 тыс. видов представляют интерес в качестве экономически важных.

Международная программа ботанических садов по охране биологического разнообразия растительного мира определяет приоритетные направления по долговременному сохранению генофондов растений *ex situ*. Прежде всего это:

- семенные банки редких и хозяйственно ценных видов;
- полевые генные банки для сохранения видов – рекальцидрантов (20 % от общего миро-

вого числа видов), семена которых не сохраняют жизнеспособность при хранении, а также видов, размножающихся вегетативно;

– банки семян и криоконсервация семян.

Во многих ботанических учреждениях мира созданы банки семян видов культурной флоры и их дикорастущих сородичей – общим числом свыше 200. Семена мобилизуют и сохраняют вот уже в течение многих десятилетий. Однако, согласно национальным отчетам, около 130 стран не имеют необходимого современного оборудования для долговременного хранения образцов. Многие коллекции плохо изучены, требуют частого пересева (возобновления жизнеспособности) семян. Тем не менее многие страны важнейшим национальным приоритетом ставят наличие своего генетического банка и репарацию сохраняемой гермоплазмы. Так, в генбанках Африки сохраняются около 200 тыс. образцов; Европы – 1,3 млн; Азии и Тихоокеанского региона – 1,8 млн; Ближнего Востока – 28,5 тыс.; Латинской Америки – 245 тыс.; Северной Америки – более 600 тыс. (табл. 1).

Одним из приоритетов Международного совета по генетическим ресурсам растений (МСГРР) является создание международной сети базовых коллекций долговременного хранения экономически важных культур (зерновые,

зернобобовые, овощные, лекарственные, технические, декоративные и др.). За ее основу приняты коллекции, наиболее значимые по сохраняемому агробиоразнообразию и качественному составу. С этой точки зрения коллекции подразделены на глобальные и региональные. МСГРР разработал общие стандарты сохранения гермоплазмы, которых должны придерживаться все страны мира. Согласно этим стандартам, семенной банк состоит из базовой и рабочей (действующей) коллекций. Рабочая коллекция используется для регулярного тестирования и возможной регенерации образцов.

Материал базовой коллекции сохраняют как можно дольше и не направляют в другие страны или организации. Перед закладкой семена, в зависимости от вида, высушивают до 5–7 %-й влажности и сохраняют в герметически закрываемых контейнерах при температурах –10÷–20 °С. Для обеспечения таких условий во многих странах сооружены специальные хранилища, представляющие собой систему рефрижераторов. Условия, создаваемые в таких генетических банках, зависят от энергообеспечения и не защищены от рисков экологических и экономических катастроф.

В России проблемой сохранения генофонда культурных растений и их дикорастущих

Таблица 1

Наиболее крупные семенные коллекции мира (ФАО, 1998)

Мировой статус	Страна	Год основания	Число образцов в коллекциях, тыс. шт.		Приоритет сборов
			национальных	базовых	
1	США	1958	550	320	Мировое агробиоразнообразие
2	Китай	1985	440	300	Местное агробиоразнообразие
3	Индия	1983	342,1	150	То же
4	Россия (ВНИИР)	1894	316	200	Мировое агробиоразнообразие
5	Франция	–	249,4	140	Местное и мировое агробиоразнообразие
6	Канада	–	212,1	110	Мировое агробиоразнообразие
7	Япония	1978	202,6	112	То же
8	Германия	1976	200	130	То же
9	Бразилия	1984	194	90	Местное и частично мировое агробиоразнообразие
10	Южная Корея	1995	135	110	Мировое агробиоразнообразие
11	Великобритания	–	114,5	70	То же

предшественников занимается ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН, который фактически выполняет роль института-координатора и несет ответственность за сохранение национального и мирового генофонда из 250 тыс. образцов семян различных сортов, форм, популяций и видов.

Долговременное хранение растительного материала в виде семян является одним из самых распространенных и эффективных подходов к сохранению большинства видов (80 %) растений мира. Создание банков семян имеет значительные преимущества по сравнению с другими методами сохранения растений *ex situ*: легкость хранения большого количества образцов, экономия места и сравнительно низкая трудоемкость. Таким образом, семена – наиболее удобная для хранения часть растений. За небольшим исключением каждое семя несет свою генетическую информацию. Необходимо, чтобы в каждом конкретном образце семян присутствовал широкий спектр генетической изменчивости, который будет способствовать в будущем минимизации потерь генетической целостности вида. То есть качественные и количественные показатели, характеризующие диагностические признаки вида, должны максимально сохраняться.

Хранение семян при низких температурах и низкой влажности (оптимальные условия) позволяет сохранять жизнеспособность семян в течение десятков и даже сотен лет. Всхожесть семян проверяется через определенные промежутки времени (тестирование), обычно каждые 5 лет из образцов семян рабочей коллекции. При снижении всхожести формируют новый образец путем выращивания новых растений из сохранившихся семян и мобилизации. Воспроизводство (регенерация) – процесс дорогостоящий, требующий времени и больших затрат.

Для обеспечения условий, необходимых для долговременного сохранения жизнеспособности семян (стабильно низкая температура), в ряде стран сооружены хранилища генетических ресурсов растений, являющиеся по сути большими холодильными установками. Их содержание – очень дорогостоящее из-за затрат на электроэнергию и обслуживание, необходимости регулярного тестирования семян на всхожесть, силу роста и способность к возобновлению. При таком хранении существует реальная уг-

роза потери всего материала банков семян при воздействии внешних факторов, как, например, отключение электроэнергии, социальные, техногенные и природные катастрофы, неблагоприятные природные условия. Свидетельством этого является печальный факт потери из-за перебоев электроснабжения громадного числа образцов в банке семян ВНИИР им. Н.И. Вавилова.

Поэтому разработка технологий длительного хранения генофонда, отличающихся экономичностью, защищенностью от глобальных и локальных природных и техногенных катастроф, приобретает особую актуальность.

В 2006 г. в Норвегии (на о-ве Шпицберген) в г. Свальбарде под эгидой государства начал реализовываться проект строительства и запуска Международного криохранилища семян с использованием холода многолетнемерзлых пород и дополнительного (искусственного) охлаждения до $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Вместе с тем следует отметить, что температуры многолетнемерзлых пород на Шпицбергене близки к $-1 \div -3\text{ }^{\circ}\text{C}$, поэтому для достижения таких отрицательных температур ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) используется рефрижераторная техника, следовательно, не снимается зависимость от стабильности энергообеспечения, а также риск утраты коллекции при различного рода природных и техногенных катастрофах. Кроме того, наши предварительные результаты показали, что такие низкие температуры ($\approx -18\text{ }^{\circ}\text{C}$) не являются оптимальными для сохранения жизнеспособности семян, особенно тропических растений.

Выходом из создавшейся ситуации может быть организация криохранилища мирового генофонда растений в слое многолетнемерзлых горных пород со стабильными температурами не выше $-4 \div -6\text{ }^{\circ}\text{C}$, обладающего высокой надежностью и экономичностью, с системой оптимизации температурно-влажностных и газовых условий, обеспечивающих сверхдлительное хранение семян без промежуточных пересевов. Такое хранилище должно обладать большой температурной инерционностью, что обеспечит сохранность генофонда и в экстремальных условиях природных и техногенных катастроф. В таком хранилище должен быть налажен контроль сохранности физиолого-биологических свойств семян, устойчивости и активности генома при выходе из анабиотического состояния.

Оптимальным регионом для создания такого криохранилища являются северные территории зоны распространения сплошной мерзлоты с температурой от -3 до -15 °С и ниже, к которым относится вся территория Северной и большая часть Центральной Якутии (рис. 1) (Браун, Граве, 1981). Мощность мерзлотного слоя в криолитозоне зависит от географического положения и высоты местности, геологического строения, теплофизических свойств горных пород, других факторов, измеряется десятками, сотнями и даже тысячами метров, как правило, составляет на равнинах от 0,1–0,2 до 0,5–0,7 км, в гористых ландшафтах – до 1,5 км. Например, в Якутии она достигает 1500 м, а в районе г. Якутска 250–350 м.

В толще таких многолетнемерзлых пород можно создавать различные камеры с температурами от -3 до -10 °С и ниже.

В Якутии есть много подземных выработок, пригодных для сооружения стабильно низкотемпературных камер с использованием надежного холода многолетней мерзлоты. Кроме того, в Институте горного дела Севера СО РАН (г. Якутск) разработаны технологии строительства и крепления подземных сооружений различного назначения, в том числе подземных естественных холодильников в слое многолетнемерзлых пород; трехмерная математическая модель и программный комплекс для расчета температурного режима подземного холодильника и выбора оптимальных параметров его регулирования; системы создания и регулирования требуемого микроклимата за счет «консервации» естественного холода в зимний период и использования его в летний период для поддержания отрицательных температур в камерах вплоть до -12 – -18 °С с точностью до

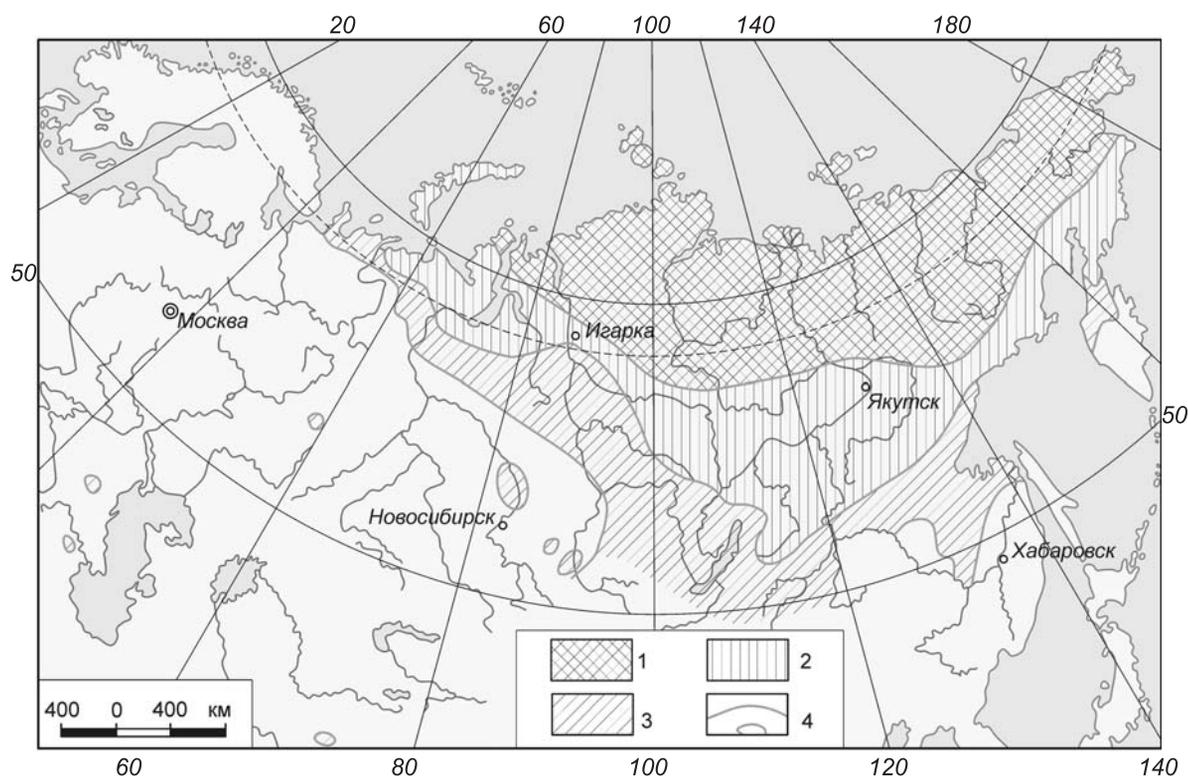


Рис. 1. Схематическая карта распространения вечной мерзлоты и преобладающих температур вечномерзлой толщи (из: Браун, Граве, 1981).

1 – районы сплошной вечной мерзлоты с температурами на глубине 10–15 м от -10 ° до -5 °С; 2 – районы с таликами и температурами грунта на глубине 10–15 м от -5 ° до $-1,5$ °С; 3 – районы с преобладанием таликов (на юге только острова вечной мерзлоты) и с температурами грунта на глубине 10–15 м выше $-1,5$ °С; 4 – граница области и островов вечной мерзлоты.

$\pm 0,2$ °С. Создан кадастр подземных выработок на территории Республики Саха (Якутия), пригодных к повторному использованию для целей, не связанных с горным производством.

Поэтому создание криохранилищ семян в толще многолетнемерзлых грунтов с круглогодично стабильными отрицательными температурами $-6 \div -8$ °С на Северо-Востоке России, с использованием только естественного холода лишено вышеуказанных недостатков и рисков.

Прецедентов такого рода хранилищ, кроме подземной лаборатории Института мерзлотоведения СО РАН и ИБПК СО РАН, в которой семена хранятся уже 30 лет, в мире нет (Соломонов и др., 1984; Мокроносов и др., 1994).

На рис. 2 представлено обобщенное строение криолитозоны и упрощенный график изменения температуры грунтов с глубиной. Подземная лаборатория Института мерзлотоведения СО РАН (г. Якутск), в которой оборудовано хранилище семян, находится в четвертичных отложениях (мощность 21 м, возраст около 10 тыс. лет) на глубине 12 м. Отложения представлены супесью и мелкозернистым песком, льдистостью 20–30 % (по весу) с незначительным (1–3 % по объему) количеством воздуха. Глубина, на ко-

торой устроено криохранилище, приходится на подошву нулевых годовых колебаний температуры (-4 °С). Относительная влажность воздуха в камере изменяется от 70 до 100 %, температура круглогодично в пределах $-4,5 \pm 0,5$ °С.

На рис. 3 представлена схема расположения подземной лаборатории, построенной в период с 1964 по 1967 гг. Проходка вертикальных стволов, галерей и боковых камер осуществлялась буровзрывным способом. Длина нижней камеры 30 м, ширина 3,5 м, высота 2,5 м. Подземная лаборатория имеет два вертикальных ствола, расположенных по концам горизонтальной галереи: один для спуска людей, другой для спуска и подъема тяжелого оборудования, образцов и пр.

В ИБПК СО РАН (г. Якутск) впервые получены экспериментальные данные, доказывающие возможность создания в толще многолетнемерзлых пород генетического банка (Кершенгольц и др., 2008).

Семена бобовых культур из коллекции ВНИИР (более 10 тыс. образцов 10 видов), заложенные в 1977–1983 гг. в герметически закрытой стеклянной таре в подземной лаборатории Института мерзлотоведения СО РАН на глубине 12 м ($t \approx -4 \div -5$ °С), в течение

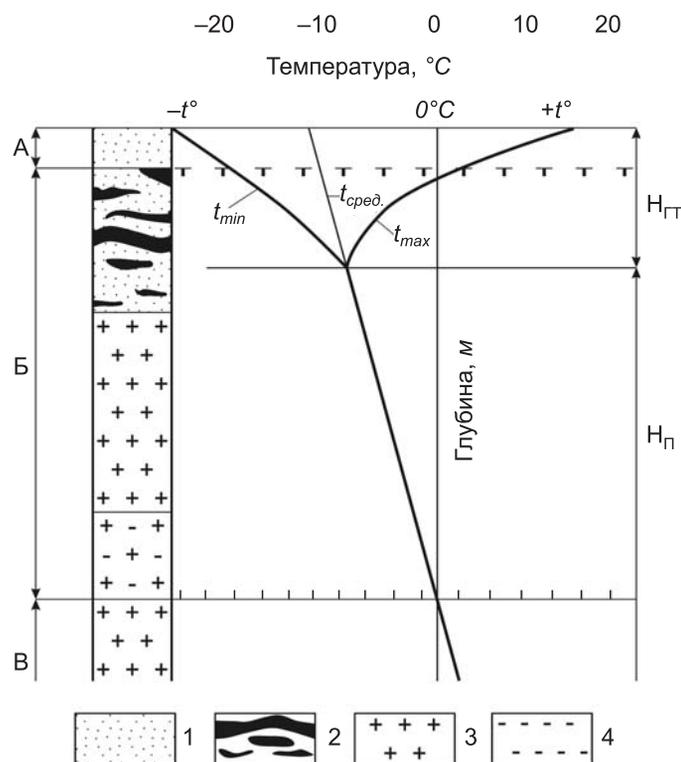


Рис. 2. Изменение температуры горных пород с глубиной и основные параметры криолитозоны и теплового поля верхних горизонтов литосферы.

1 – рыхлые грунты; 2 – ледяные включения; 3 – скальные породы; 4 – рассолы.

А – слой сезонного промерзания и оттаивания (деятельный слой); Б – криолитозона (вечная мерзлота); В – горные породы с положительной температурой, °С; $H_{ГТ}$ – мощность слоя годовых теплооборотов; $H_{П}$ – мощность слоя с постоянной температурой в конкретной точке.

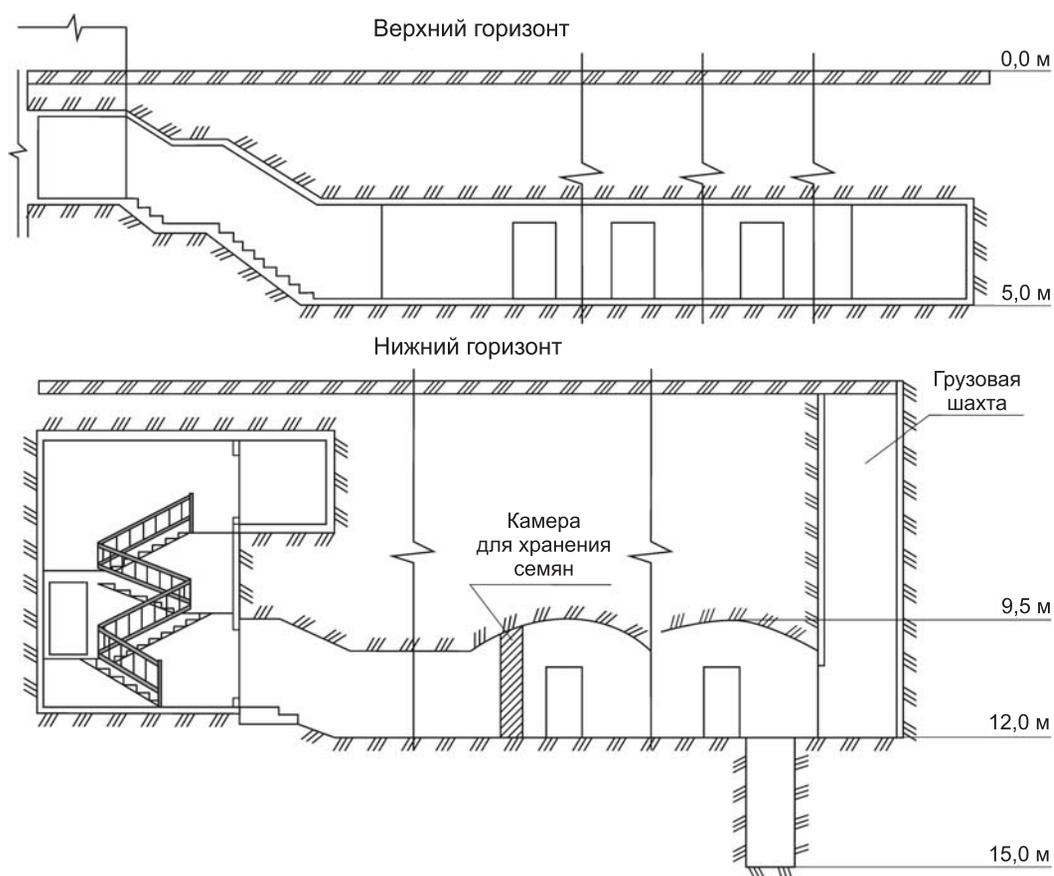


Рис. 3. Схема расположения подземной лаборатории.

25–31 года сохраняют свою исходную жизнеспособность – всхожесть на уровне 95–100 % при уровне хромосомных aberrаций около 1–4 %, в то время как хранение семян гороха из коллекции ВНИИР в стандартных условиях (г. Крымск, Екатеринбург, Михнево) в течение 11–13 лет приводит к снижению всхожести до 50–80 %, при уровне хромосомных aberrаций до $6 \div 28$ %, а при их хранении в течении 28 лет – 31 года в данных условиях семена становятся полностью нежизнеспособными (табл. 2).

Следует также отметить, что при хранении семян в слое многолетнемерзлых пород скорость синтеза белков снизилась на 60–70 % по сравнению с семенами, хранящимися 11–13 лет в стандартных условиях, клеточного деления – на 70–95 %. Это указывает на истинность процессов гипобиоза. Уровень защитных антиоксидантных процессов повысился в 1,1–3,2 раза, активность систем репарации ДНК – в 1,1–1,3 раза. Это привело к тому, что интегральный по-

казатель устойчивости генетического аппарата возрос в среднем в 1,5–2,4 раза.

Выявленная тенденция в изменении всхожести семян гороха, биохимических характеристик в зависимости от условий хранения была подтверждена при исследовании пяти других сортов гороха в 2007 г. (табл. 3, 4).

На такую же тенденцию указывают и результаты по изменению всхожести семян бобовых и зернобобовых культур после длительного хранения в толще многолетней мерзлоты (табл. 5).

Таким образом, предварительные результаты позволяют заключить, что хранение семян бобовых и зернобобовых культур в течение более 30 лет в слое многолетнемерзлых пород при температурах $-4 \div -5$ °С обеспечивает высокую сохранность их биологических свойств, а именно всхожести семян, по-видимому, за счет, во-первых, уменьшения количества аномальных митозов в меристематических клетках, во-вторых, за счет более глубокого состояния покоя.

Таблица 2

Всхожесть семян и цитолого-биохимические характеристики четырех сортов гороха, хранящихся в разных температурных условиях

Место хранения	Срок хранения, лет	Всхожесть, %	Уровень хромосомных aberrаций, %	$k_{\text{оаз}}$	$k_{\text{оар}}$	$k_{\text{репар}}$	$k_{\text{уг}}$
Сорт ВИТ							
Михнево	12	80,0 ± 8,0	16	1,0	1,0	1,0	1,0
Крымск	31	0					
Якутск	26	100,0 ± 10,0	4	3,2	0,7	1,2	2,4
Сорт Чифлик-5							
Екатеринбург	13	50,0 ± 5,0	6	1,0	1,0	1,0	1,0
Екатеринбург	31	0					
Якутск	27	100,0 ± 10,0	1	1,1	0,7	1,3	1,5
Сорт Cartess Skipper							
Крымск	11	70,0 ± 7,0	12	1,0	1,0	1,0	1,0
Крымск	28	0					
Якутск	27	95,0 ± 9,0	1	1,4	0,6	1,1	1,6
Сорт Zuckerbsen Ambrosea							
Екатеринбург	12	60,0 ± 6,0	28	1,0	1,0	1,0	1,0
Крымск	27	0					
Якутск	26	90,0 ± 9,0	4	1,6	0,6	2,3	2,7

$k_{\text{оаз}}$ – нормированный коэффициент активности систем антиоксидантной защиты; $k_{\text{оар}}$ – нормированный коэффициент общей активности генома в процессах репликации, репарации ДНК и направленных на трансляцию; $k_{\text{репар}}$ – нормированный коэффициент активности систем репарации ДНК; $k_{\text{уг}}$ – нормированный коэффициент устойчивости генома.

Таблица 3

Всхожесть семян гороха № 5649, 6249, 6764, 7405 разных сроков хранения

№ сорта	Наименование сорта	Откуда получен	Место репродукции	Год урожая	Место хранения	Всхожесть семян, %
5649	Findes yournath	ВИР Франция	Крымск	1978	ИМ СО РАН	100,0 ± 10,0
				2003	ВНИИР	85,0 ± 10,0
6249	Slipia	ВИР Великобритания	Крымск	1981	ИМ СО РАН	100,0 ± 10,0
				2005	ВНИИР	90,0 ± 9,0
6764	Nz 205	ВИР Германия	Крымск	1977	ИМ СО РАН	100,0 ± 10,0
				2003	ВНИИР	90,0 ± 9,0
7405	Parade	ВИР Нидерланды	УОС	1981	ИМ СО РАН	80,0 ± 8,0
				2003	ВНИИР	60,0 ± 6,0

Между растениями, выращенными из семян после длительного хранения и из свежих семян, достоверных различий по биоморфологическим признакам не отмечено.

До сих пор имеется мало сведений, позволяющих разработать надежные технологии длительного сохранения популяционного разнообразия редких и исчезающих видов. Для

Таблица 4

Нормированные физиологические и биохимические характеристики
клеток проростков гороха № К-6128 и К-6232

Вариант	Место хранения	Срок хранения, лет	Всхожесть, %	$k_{\text{оаз}}$	$k_{\text{оаг}}$	$k_{\text{репар}}$	$k_{\text{уг}}$
К-6232	Крымск	28	0	–	–	–	–
	Крымск	11	70 ± 7	1,0	1,0	1,0	1,0
	Якутск, Институт мерзлотоведения	27	100 ± 9	1,4	0,8	1,1	1,4
К-6128	Крымск	27	0	–	–	–	–
	Екатеринбург	12	70 ± 7	1,0	1,0	1,0	1,0
	Якутск, Институт мерзлотоведения	26	100 ± 9	1,5	0,7	2,1	2,2

Таблица 5

Всхожесть семян бобовых и зернобобовых культур
после длительного хранения в толще многолетней мерзлоты

Вид	Количество образцов, шт.	Возраст семян, лет	Срок хранения, лет	Исходная всхожесть, %	Всхожесть после хранения, %
Горох	12	17–27	14–26	96,3	98,8
Вика	4	24	24	95,3	97
Долихос	1	13	13	86	42,5
Нут	6	13	13	97,5	98,5
Маш	15	22	22	97,8	98
Люпин	9	20–22	20–22	84	94,2
Чечевица	37	19–24	18–23	95,1	88,4

этого необходимо определить минимальное количество особей для обеспечения достаточного генетического разнообразия каждого вида, занесенного в «Красную книгу».

Температура -18°C , которая будет поддерживаться в камерах (о. Шпицберген), может привести к ускоренному старению семян. Согласно последним сведениям, метод криоконсервации (-196°C) часто вызывает негативное изменение количественных морфологических показателей. Создание хранилища в толще многолетнемерзлых пород Якутии при постоянной температуре около -10°C будет полезно для длительного хранения мировых коллекций гермоплазмы, включая теплолюбивые виды.

Строительство генетического банка в толще многолетнемерзлых пород откроет позитивные перспективы в отношении:

– создания экономически и экологически выгодного, защищенного от возможных природ-

ных, техногенных и социальных катастроф банка семян, условий для длительного (в течение столетий) хранения агробиоразнообразия, природных популяций редких и исчезающих видов;

– сбережения природного, интродукционного и селекционного внутривидового богатства видов, представляющего большую ценность с точки зрения сохранения биоразнообразия растений;

– ускорения и повышения эффективности селекционного процесса за счет продолжительного использования гибридного разнообразия, создаваемого селекционерами. Ведь селекционеры работают, как правило, с 1–2 семействами, остальные утрачиваются, теряют всхожесть через 3–5 лет. Криохранилище позволит сохранять все предселекционное разнообразие на протяжении десятилетий и столетий;

– взаимовыгодного экономического сотрудничества со многими странами мира по

возможному созданию Международного криобанка семян с использованием «бесплатного и надежного природного холода» многолетне-мерзлых грунтов;

– расширения фронта научно-практических работ по изучению физиолого-биохимических процессов при длительном старении гермоплазмы, по использованию подземных хранилищ мерзлой толщи для долговременного хранения других объектов растительного и животного происхождения (меристемы, пыльцы, спор, зародышей, культуры тканей, вегетативных побегов, спермы и т. д.), а также продовольствия;

– создания замороженных коллекций вод открытых и закрытых водоемов для мониторинга за состоянием окружающей среды;

– криохранения микроводорослей, тканей растений и животных, в перспективе – эмбрионов животных.

Следует также отметить, что в настоящее время знания о хранении семян ограничены, так как большинство исследований проведено на сельскохозяйственных растениях. Почти ничего не известно об особенностях хранения семян большинства дикорастущих растений, в том числе редких и исчезающих. Поэтому срочно необходимы исследования по сохранению жизнеспособности и условиям прорастания дикорастущих растений, в частности, нужен быстрый способ определения жизнеспособности и генетического старения хранящихся образцов. Необходимо также изучить влияние газовой среды (диоксид углерода, азот, аргон)

на сохранение жизнеспособности гермоплазмы при ее криохранении.

Исследования механизмов старения семян при криохранении могут дать совершенно новые подходы к решению геронтологических проблем.

В последние годы к идее создания Международного криобанка семян в толще многолетней мерзлоты проявляют немалый интерес высокоразвитые страны: Норвегия, а также Япония. В Японии успешно работает роботизированный генетический банк долговременного хранения геномов растений, сохраняющий сотни тысяч образцов семян мирового агробиоразнообразия.

Литература

- Браун Дж., Граве Н.А. Нарушение поверхности и ее защита при освоении Севера. Новосибирск: Наука, 1981. 88 с.
- Кершенгольц Б.М., Иванов Б.И., Чжан Р.В. и др. Способ длительного сохранения жизнеспособности семян растений с использованием естественного холода многолетней мерзлоты // Заявка на патент РФ №2008103456/13(003763), приоритет от 30.01.2008.
- Мокроносков А.Т., Купцова Е.С., Попов А.С., Кузнецов В.В. Генетическая коллекция как способ сохранения биоресурсов планеты // Вестник РАН. 1994. Т. 64. № 11. С. 991–1001.
- Соломонов Н.Г., Алексеев В.Г., Дохунаев В.Н. О путях использования вечной мерзлоты в решении народно-хозяйственных задач // Механизмы криоповреждений и криозащиты биологических объектов: Тез. докл. II Всесоюз. конф. Харьков, 1984. Т. 2. С. 83.
- Bradtz S.M. State of the World's Forests 1997 // Nature Resources. UNESCO. 1997. V. 33. № 3/4. P. 18–25.

USE OF PERMAFROST NATURAL COLD FOR LONG-TERM STORAGE OF GENETIC RESOURCES

**B.M. Kershengolts¹, B.I. Ivanov¹, R.V. Desjatkin¹, P.A. Remigaylo¹,
I.A. Fyodorov¹, R.V. Chzhan²**

¹ Institute for Biological Problems of Cryolithozone, SB RAS, Yakutsk, Russia,
e-mail: kerschen@asrs.ysn.ru; ² Institute of Permafrost, SB RAS, Yakutsk, Russia

Summary

Influence of year-round stable low temperatures ($-6 \div -8$ °C) in a thickness of permafrost only due to a natural cold on physiological and cyto-biochemical characteristics of seeds of the legumes stored under given conditions for nearly 30 years is investigated. The analysis of functional activity data of genome indicates physiological hypobiosis processes of seeds in given conditions of cryostorage, 95–100 % of germination safety at a level of chromosomal aberrations is about 1–4 % in total. Storage of peas seeds from collection of Russian Research Institute of Plant Industry under standard conditions (Krymsk, Ekaterinburg, Mikhnevo cities) within 11–13 years results in reduction of germination to 50–80 %, at a level of chromosomal aberrations to $6 \div 28$ %, and at their storage during 28–31 years results in complete loss of germination.

The analysis of various methods of long-term storage of genetic resources was carried out and the conclusion about optimality of a cryostorage method in a layer of permafrost in North-East of Russia by following criteria has been made: the maximal economic profitability and biological efficiency, reliability and security from various natural and technogenic accidents, minimization of expenditures of labour. The project of creation of International cryobank for genetic resources with the use of «free and reliable natural cold» of permafrost is offered and directions of its activity are formulated.

ПОДЗЕМНЫЕ ХРАНИЛИЩА В ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЕ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

А.В. Брушков

Тюменский государственный нефтегазовый университет, Тюмень, Россия,
e-mail: brouchkov@hotmail.com

Рассматривается вопрос использования подземных хранилищ в вечной мерзлоте для хранения биологических материалов. Приводится краткое описание наиболее известных подземелий. Описаны результаты микробиологических исследований вечной мерзлоты применительно к проблеме длительного хранения. Естественный температурный режим, особенно в сочетании с дополнительным охлаждением, и исключительная экономичность, по-видимому, позволяют устраивать эффективные хранилища биологических материалов в толще вечной мерзлоты, а также проводить в них биологические эксперименты в течение длительного времени.

Ключевые слова: биологические материалы, вечная мерзлота, криохранилище.

Введение

Несмотря на предположение Анаксагора, сделанное в V в. до н. э. о том, что семена существуют «всегда и везде», проблема долгосрочного сохранения жизнеспособности биологических материалов не только остается актуальной, но приобретает остроту. Начиная с фундаментальных вопросов происхождения жизни и переноса ее с других планет и заканчивая проблемами хранения запасов продовольствия и генетического материала современная наука сталкивается с необходимостью обоснования длительных условий хранения и требований к соответствующим инженерным сооружениям. О максимальной продолжительности жизни семян известно недостаточно. До сих пор неизвестно, например, могут ли микроорганизмы, споры и семена переживать в течение многих лет условия космоса. Один из отцов современной биологии Ф. Крик в 1973 г. поддержал идею «направленной панспермии» с других планет, но она является недоказанной гипотезой. Только недавно получены результаты, касающиеся выживания микроорганизмов в тысячелетней мерзлоте. Правда, механизм такого длительного выживания остается неизвестным. Представляют важное практическое значение разработка

методики и хранение генетических коллекций уникального сибирского и других генофондов возделываемых растений. Возникает очевидная необходимость использования естественных ресурсов нашей страны и разработки технологии долгосрочного хранения в вечной мерзлоте Сибири и Якутии, обеспечивающей жизнеспособность и сохранность коллекций для будущих поколений. Такие хранилища могут использовать уже существующие сооружения, например, подземелья в Ямбурге (Тюменская область), Амдерме (Архангельская область) и Якутске (Республика Саха). Такие хранилища считаются перспективными для сохранности генофондов растений. Так, недавно построено хранилище в вечной мерзлоте на Шпицбергене, закрытое для легитимного доступа российских исследователей. Актуальной представляется реорганизация инфраструктуры хранения генофондов сельскохозяйственных растений в РФ и создание на базе институтов СО РАН и СО РАСХН проекта национальной программы долгосрочного хранения генофонда растений в вечной мерзлоте. При этом, как известно, ИЦиГ СО РАН и СибНИИРС СО РАСХН обладают крупнейшими генетическими банками, уступающими лишь банкам университета Киото (Япония) и китайским учреждениям.

Россия имеет не только наибольшую в мире территорию, но и наибольшую территорию вечной мерзлоты, которая занимает около 3/4 территории. Кроме того, мерзлота практически не проницаема ни для жидкостей, ни для газов. Поэтому очевидно стремление использовать этот запас естественного холода для длительного хранения живых биологических материалов. При этом можно обойтись минимальным количеством обслуживающего персонала. Подземные хранилища – вовсе не новая идея. Сегодня, например, Федеральное агентство по госрезервам имеет около 150 подземных хранилищ на территории России, в том числе по некоторым открытым публикациям, и в северной зоне. Как известно, Россия пока отказалась от планов захоронения радиоактивных отходов в вечной мерзлоте Новой Земли. Проекты строительства хранилищ для твердых радиоактивных отходов в вечной мерзлоте, по сообщениям печати, отвергнуты в основном по соображениям безопасности и надежности. В альтернативных мерзлоте гранитных массивах исключена возможность оттаивания под влиянием выделяющегося тепла. При этом естественные низкие температуры, стабильность которых, как правило, выше, чем в искусственных холодильниках, наоборот, благоприятны для сохранения биологических материалов или проведения длительных экспериментов.

Хранилища в вечной мерзлоте

Как известно, еще в 1900 г. русский исследователь Арктики Э. Толль создал в мерзлоте на Таймыре склады с продовольствием для будущей экспедиции. Одним из них никто не воспользовался, и при его современном обследовании выяснилось, что мучные продукты, печенье, шоколад и консервы находятся в удовлетворительном состоянии и пригодны к употреблению. В России имеется несколько подземелий в вечной мерзлоте, пригодных для возможного длительного хранения биологических материалов. Особенностью мерзлоты является то, что сезонные колебания температуры затухают на глубине 10–15 м, поэтому на большей глубине температура мерзлоты постоянна в пределах около $\pm 0,1$ °С.

Бывшая Амдерминская мерзлотная станция (АНИМС, ранее НИМЛ Главсевморпути и

ЛенЗНИИЭП) располагала бывшей разведочной флюоритовой шахтой на глубине около 14 м в толще докембрийских известняков со среднегодовой температурой около -4 °С. Сейчас шахта находится в ведении Кольского филиала РАН. Только ее очень небольшая часть используется для сейсмических наблюдений. Длина подземных коридоров составляет около 200 м, помещение сухое, почти не содержит льда. Шахта оборудована лестницей, подъемником, электрической сетью, защищена надстройкой на поверхности.

В Якутске находится заметно меньшее (около 30 м) по размерам подземелье с приблизительно теми же температурой и глубиной в песчаных отложениях под зданием Института мерзлотоведения СО РАН им. П.И. Мельникова. Там расположен музей и проводятся исследования (рис. 1). В верхнюю часть помещений в некоторые годы поступают грунтовые воды, правда, в небольшом количестве.

Этому же институту принадлежала Игарская подземная лаборатория, которая сейчас превращена в муниципальный музей. Однако она еще меньше якутской, поэтому едва ли пригодна для хранения значительных по объему коллекций биоматериалов и представляет интерес, возможно, только для исследований.

Существуют хранилища в вечной мерзлоте с довольно низкими температурами для хранения продуктов, преимущественно рыбы, в Хатанге, в Русском Устье и других местах. Одно из крупных хранилищ находится в г. Ямбурге (рис. 2). Создавали его для хранения продуктов планируемого 30-тысячного города, но город не построили, а хранилище осталось. Оно находится на сравнительно небольшой глубине, поэтому температуры там, вероятно, не постоянны, но довольно низки, возможно, ниже -5 °С.

Среди зарубежных хранилищ можно упомянуть неглубокий (несколько метров) тоннель Фокс в песчаных отложениях на Аляске, с температурами около $-3-4$ °С. Тоннель принадлежит министерству обороны США. Вблизи Фербенкса также находятся несколько старых шахт по добыче золота протяженностью десятки метров в мерзлых песчано-галечных отложениях.

В Норвегии недавно закончено строительство хранилища на архипелаге Шпицберген,



Рис. 1. Подземелье Института мерзлотоведения им. П.И. Мельникова СО РАН в Якутске.

в котором на случай глобальной катастрофы будут храниться семена растений. Хранилище расположено в горном массиве, в вечной мерзлоте, но охлаждается искусственно до -18°C . Идея его создания заключается в том, что условия удаленного района с низкой естественной температурой (около $-3,5^{\circ}\text{C}$) могут обеспечить защиту генетического фонда в случае глобальной катастрофы или войны. Кроме того, надежность поддержания низкой температуры не может сравниться ни с какими искусственными условиями даже в настоящее время, когда существует возможность отказов и отключений, или обычного недостатка финансирования. Ожидается, что в норвежском хранилище будут собраны семена со всего мира, около трех миллионов образцов. Стоимость проекта Международного арктического генетического банка около 10 млн долларов, причем финансирует его правительство Норвегии. По сообщениям, образцы наиболее важных сельскохозяйственных культур (500 семян каждого образца) по мере поступления будут запаяны в

алюминиевые пакеты размером $26,5 \times 9$ см и заложены в коробки размером $60 \times 40 \times 28$ см. Коробки размещаются на полках в 4 ряда. Образцы семян хранятся в трех отсеках, а внутренние размеры всего хранилища $16,5 \times 53,8 \times 6,2$ метра.

Как известно, Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова в С.-Петербурге в свое время предполагал построить аналогичное хранилище в условиях вечной мерзлоты в Якутии. Но во время реформ 1990-х годов эти работы пришлось свернуть. По сообщениям прессы, американцы построили свой банк в горах Колорадо в 1956 г., а наш генбанк, построенный в 1976 г., был устроен на Кубани. Россия – одно из государств, которое обладает собственной уникальной коллекцией семян. Она была собрана в основном, ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (около 300 тысяч образцов, относящихся более чем к 2 тыс. видов), но и другие российские организации, в частности, в Сибири, располагают значительными коллекциями.

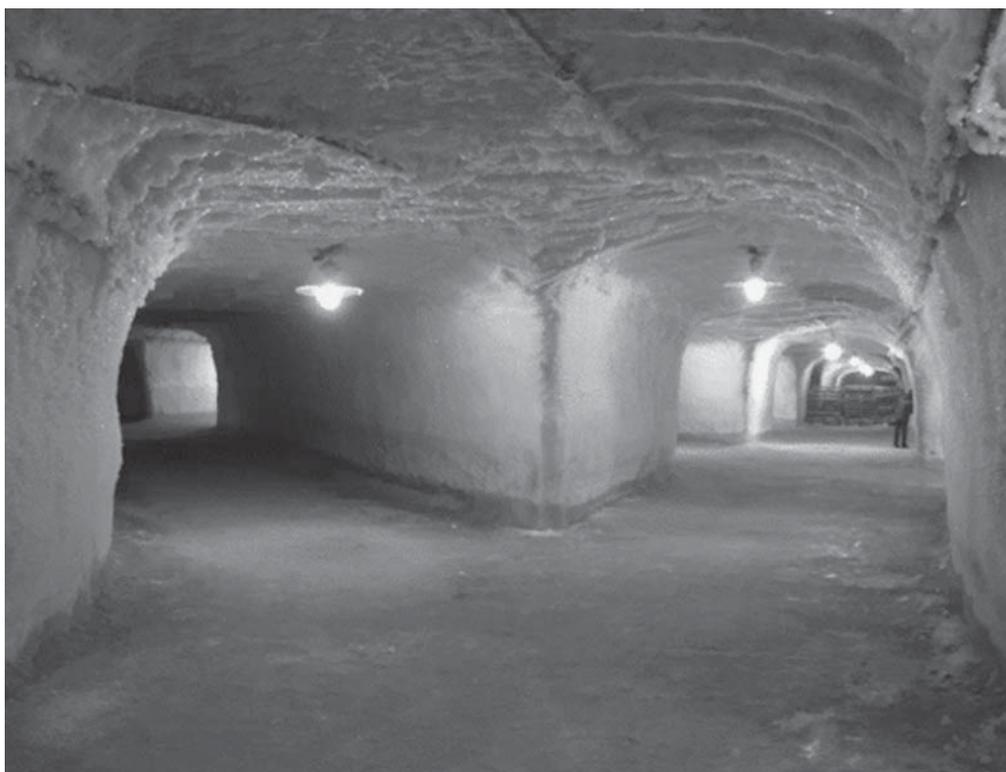


Рис. 2. Подземное хранилище в Ямбурге, Тюменская область.

Жизнь в мерзлоте

С точки зрения эффективного сохранения семян растений в вечной мерзлоте важно изучение вопросов жизнедеятельности микроорганизмов при низких температурах. Биологическим проблемам криолитогенеза, как и литогенеза вообще, к сожалению, уделяется неоправданно мало внимания. Так как большая часть земной поверхности имеет температуру ниже 5°C , способность клеток к существованию при низких температурах имеет важное значение для их выживания (Morita, 1975). Первые свидетельства жизнеспособности микроорганизмов в мерзлоте появились в XIX столетии. Изучение мерзлых морских осадков с полуострова Ямал, выполненное автором летом 1999 г., подтвердило такую способность. Эти отложения не таяли в течение по крайней мере последних 40 тыс. лет и имели среднюю температуру около -4°C . С.С. Абызов с соавт. (1979) обнаружили во льду на антарктической станции «Восток» бактерии, грибы, диатомеи и другие микроор-

ганизмы. Цианобактерии были найдены в антарктическом ледяном щите на глубине 3600 м, их возраст соответствует возрасту льда на этой глубине и составляет около 500 тыс. лет. Рост выделенных штаммов происходит при широком диапазоне температуры от 4 до 50°C . Большинство микроорганизмов не размножается при температурах ниже 0°C . Хотя, как это было установлено впервые еще в 1887 г. Фостером, имеются бактерии, способные к росту при отрицательных температурах. Метаболизм бактерий в вечной мерзлоте был отмечен при температурах около -20°C (Friedmann, 1994). Имеются факты относительно роста бактерий ниже 0°C (Clein, Schimel, 1995). Ферменты также активны в почвах при температуре -20°C . Некоторые дрожжи растут при температурах ниже 0°C . Вода внутри клеток не замерзает иногда и при температуре -20°C , что было установлено для *Mytilus edulis* (Kanwisher, 1955). В настоящее время проблема развития бактерий при отрицательных температурах еще далека от своего разрешения. Считается, что клетки

микроорганизмов имеют ряд органических криопротекторов и используют специальные механизмы, чтобы защитить себя от ледяной кристаллизации. Это позволяет им выжить в течение нескольких лет в переохлажденном состоянии. Таким образом, сегодня имеется ряд доказательств, что некоторые микроорганизмы, сохраняющиеся во льду и вечной мерзлоте в течение длительного времени, могут не только находиться в анабиотическом состоянии, но и продолжать свою жизнедеятельность.

Для исследования микроорганизмов в мерзлых породах нами были отобраны образцы из обнажений и подземных сооружений в нескольких районах. Одно из них расположено на левом берегу реки Алдан, в 325 км вверх по течению от ее впадения в реку Лену, на Мамонтовой горе. Образцы были отобраны на глубине 0,9–1 м ниже слоя сезонного оттаивания. Обнажение разрушается рекой (более 10–15 см в год), так что отложения, из которых отбирались образцы, находились, очевидно, в многолетнемерзлом состоянии. Они представляют собой тонкозернистые пески и алевролиты; их возраст соответствует среднему миоцену. Похолодание началось здесь в конце плиоцена, около 3–3,5 млн лет тому назад. Температура в январе для этой территории была оценена Н.Т. Бакулиной и В.Б. Спектором (2000) от –12 до –32 °С, а в июле от +12 до +16 °С. Отложения, по-видимому, не оттаивали в плейстоцене из-за холодного климата Якутии. Таким образом, возраст мерзлоты на Мамонтовой горе, вероятно, может достигать 3,5 млн лет. Кроме того, были отобраны образцы из повторно-жильных льдов как в Якутии, так и на Аляске: в тоннеле Фокс и в золотой шахте вблизи Фербенкса. Были также исследованы стенки подземелья Института мерзлотоведения им. П.И. Мельникова в Якутске.

На Мамонтовой горе в мерзлых миоценовых отложениях была найдена бацилла, способная к аэробному и анаэробному росту в различных средах; оптимальная температура роста +37 °С. Она также росла при –5 °С. Бацилла представляет собой сравнительно большую (1–1,5 × 3–6 микрон) палочку, которая в культуре соединяется в цепи и способна образовывать споры круглой формы. Она неподвижна и обладает гемолитической активностью. При температуре –5 °С бацилла росла как в замороженной, так и в пе-

реохлажденной среде. Родственные виды включают *Bacillus simplex*, *B. macroides* и другие. Последовательность нового бактериального гена rRNA 16S из образцов Мамонтовой горы была депонирована в DDBJ/EMBL/GeneBank под номером AB178889, идентификационный номер 20040510203204.24251. Рост бацилл при низких температурах наблюдался исследователями и ранее (Ashcroft, 2000); известно, например, что *Bacillus anthracis* легко переносит замораживание. Однако оптимальная температура роста найденной бациллы довольно высока. Несмотря на то, что она может расти и при температуре ниже нуля, колоний на отобранных образцах не наблюдалось. Споры бацилл известны как наиболее резистентные (Nicholson *et al.*, 2000); так, они были найдены в янтаре с абсолютным возрастом 120 млн лет. Поэтому находка живой бациллы в древней мерзлоте Мамонтовой горы в целом не удивительна. Насколько активна ее жизнь в мерзлоте, однако, неясно; это относится и к микроорганизмам, выделенным из льдов Центральной Якутии и Аляски.

Из повторно-жильных льдов Якутии и Аляски было выделено несколько видов микроорганизмов. Многие из выделенных бактерий грамположительны и близки к *Arthrobacter* и *Micrococcus* spp., а грибы – к *Geomyces* sp. Большинство изолятов оказались способны к росту при –5 °С, но не росли при +30 °С.

В подземелье Института мерзлотоведения им. П.А. Мельникова в Якутске, на глубине около 7 м на стенах был найден белый грибной мицелий. Похожий мицелий наблюдается и на стенках тоннеля Фокс на Аляске. Идентификация выделенного вида (штамм PF) была основана на его морфологических характеристиках и анализе последовательности нуклеотидов 18S rRNA; он близок к *Penicillium echinulatum* и, возможно, представляет собой новый вид. Образцы из мерзлых отложений были подготовлены вместе с образцами штаммов *P. echinulatum*, полученных из банка культур, и инкубированы при температурах +25 °С, +5 °С и –5 °С. Характеристики прорастания спор и роста штамма PF из мерзлых отложений и штаммов IFO 7760 и IFO 7753 *P. echinulatum* при более низких температурах оказались различными: штамм PF сравнительно быстро рос при –5 °С (рис. 3). Выделенный штамм, близкий к *P. echinulatum*,



Рис. 3. Рост гриба *Penicillium* spp. при $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

в подземелье Института мерзлотоведения им. П.И. Мельникова в Якутске несмотря на его адаптацию к холоду и условиям питания вполне может быть современным, занесенным с поверхности. Кроме того, этот гриб растет только в аэробных условиях. Поэтому и его способность к росту в мерзлоте сомнительна, но в условиях подземелья он вполне жизнеспособен.

Заключение

Таким образом, вопрос использования подземных хранилищ в вечной мерзлоте для хранения биологических материалов представляется перспективным, но требует дополнительных исследований. На возможность использования подземных хранилищ в мерзлоте неоднократно указывали специалисты-мерзлотоведы, в частности академик П.И. Мельников (1945, 1962). В настоящем обзоре приведено лишь краткое описание наиболее известных подземелий. Результаты микробиологических исследований вечной мерзлоты показывают, что, с одной стороны, живые клетки (по крайней мере, простейших эукариот и бактериальные) способны сохраняться чрезвычайно долго даже при сравнительно высоких отрицательных температурах около $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. С другой стороны, способность бактерий

и грибов к росту при таких температурах может служить препятствием для хранения семян. Понизить температуру мерзлоты с помощью постоянно действующих автоматических установок, например, так называемых сезонно-действующих устройств, легко и сравнительно недорого. Естественный температурный режим, особенно в сочетании с дополнительным охлаждением, и исключительная экономичность, по-видимому, позволяют устраивать эффективные хранилища биологических материалов в толще вечной мерзлоты, а также проводить в них биологические эксперименты в течение длительного времени.

Литература

- Абызов С.С., Бобин Н.Е., Кудряшов Б.Б. Микробиологические исследования ледника в Центральной Антарктиде // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1979. № 6. С. 828–836.
- Бакулина Н.Т., Спектор В.Б. Реконструкция климатических параметров неогена Якутии по палинологическим данным // Климат и мерзлота / Ред. Г.Н. Максимов, А.Н.Федоров. Якутск: Ин-т мерзлотоведения, 2000. С. 21–32.
- Мельников П.И. Вечное хранилище // Наука и жизнь. 1945. № 6.
- Мельников П.И. Об изменениях температуры горных пород за вековой период в шахте Шергина в г. Якутске и продолжительности тепловых процессов при восстановлении нарушенных температур мерзлых горных пород. Многолетнемерзлые породы и сопутствующие им явления на территории Якутской АССР. М.: Изд-во АН СССР, 1962. С. 54–67.
- Ashcroft F. Life at the Extremes. Harper Collins, 2000. 326 p.
- Friedmann E.I. Permafrost as microbial habitat // Viable Microorganisms in Permafrost. Pushchino: Russian Academy of Sciences, 1994. P. 21–26.
- Clein J.S., Schimel J.P. Microbial activity of tundra and taiga soils at sub-zero temperatures // Soil Biol. Biochem. 1995. V. 27. P. 1231–1234.
- Kanwisher J. Freezing in intertidal animals // Biol. Bull. 1955. V. 109. P. 56–63.
- Morita R.Y. Psychrophilic bacteria // Bacteriol. Rev. 1975. V. 39. P. 144–167.
- Nicholson W.L., Munakata N., Horneck G. *et al.* Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. V. 64. P. 548–572.

UNDERGROUND STORAGE IN PERMAFROST: A REVIEW

A. Brouchkov

Tyumen State Oil and Gas University, Tyumen, Russia, e-mail: brouchkov@hotmail.com

Summary

Underground mines in permafrost are considered for storage of biological materials. Short sketch of existing mines is given. Results of microbiological research in permafrost in relation to the problem of long term storage are described. Natural temperature mode, especially in combination with artificial chilling, and exceptional low cost make underground mines in permafrost efficient for storage of biological materials and experiments.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ И СВЕРХНИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СЕМЯН ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ

Г.Ф. Сафина

Государственный научный центр РФ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: g.safina@mail.ru

Изучали влияние низкотемпературного и криохранения, а также режимов замораживания–оттаивания при криоконсервации семян диких видов груши, яблони, крыжовника, красной и черной смородины на их жизнеспособность и динамику всхожести семян яблони. Показано, что семена плодовых и ягодных растений с влажностью 5–6 % можно хранить при температуре –18 °С в течение нескольких лет без снижения их жизнеспособности. Криоконсервация семян исследованных растений с оптимальной влажностью независимо от способа замораживания–оттаивания также не влияет на их жизнеспособность. Динамика всхожести и требования к стратификации семян яблони под действием замораживания до сверхнизких температур не меняются. Эти результаты предполагают, что хранение при –18 °С или в жидком азоте может быть использовано для семян диких видов плодовых и ягодных растений.

Ключевые слова: плодовые, ягодные культуры, криохранение, криоконсервация.

Введение

В коллекции Всероссийского института растениеводства представлено большое количество дикорастущих видов плодовых и ягодных растений, которые являются важным источником разнообразных ценных для селекции признаков (Лихонос, 1969, 1974; Бурмистров, 2007). Сохранение коллекции в живом виде – процесс довольно трудоемкий, в связи с этим актуально создание дублетной коллекции. Самым простым и дешевым способом является длительное хранение генетической коллекции растений в виде семян, так как содержание влаги в семенах относительно невелико и при закладке их на низкотемпературное и криогенное хранение не требуется дорогостоящего оборудования и специальной подготовки (обезвоживание, обработка криопротекторами и др.). Наиболее предпочтительным вариантом для сортовой коллекции плодовых является сохранение образцов в виде вегетативного материала (побеги, почки), поскольку при семенном размножении сортовые признаки материнского растения в

потомстве теряются. В то же время популяции диких видов при семенном размножении сохраняют признаки вида. Поэтому для видовой коллекции вполне обосновано длительное хранение образцов в виде семян.

Длительность хранения семян в жизнеспособном состоянии в значительной степени зависит от влажности и температуры хранения (Huntzinger, 1971; Grisez, 1976; Omura *et al.*, 1978; Sanada *et al.*, 1980; Попов, 1982; Молодкин, 1986; Stanwood, Sowa, 1995; Pence, 1996). Для семян большинства видов растений оптимальная влажность лежит между 4 и 7 % (Stanwood, Bass, 1978). Неглубокое замораживание (–10, –18 °С) для хранения семян ряда культур является недостаточным. Наиболее перспективным считается хранение при температуре жидкого азота, которая позволяет теоретически неограниченное время сохранять всхожесть и генетическую полноценность семян. Рядом исследователей показана видоспецифичность реакции семян на температуру хранения и скорость замораживания–оттаивания (Sakai, Noshiro, 1975; Gresshoff, Gartner, 1977; Федосенко, 1978; Молодкин, 1986;

Тихонова и др., 1990, 1994; Далецкая, Полякова, 1994; Нестерова, Яшина, 1994). Относительно режимов замораживания и оттаивания данные литературы противоречивы. Для большей части изученных видов наиболее близким к контролю оказался режим быстрого замораживания до температуры жидкого азота. В качестве наиболее благоприятных режимов оттаивания после криоконсервации упоминаются различные температурные режимы: при комнатной температуре, в водяной бане при 30 °С, 40 °С и 60 °С.

Целью настоящей работы было исследовать влияние низкотемпературного хранения и разных способов замораживания–оттаивания при криогенном хранении на жизнеспособность семян диких видов груши, яблони, красной и черной смородины и крыжовника из коллекции ВИР.

Материал и методы

Образцы свежесобранных семян подсушивали в сушильной камере при температуре 18 °С и относительной влажности воздуха 10 % до равновесной влажности, которая составляла 5–6 %. Условия сушки соответствовали стандартам для генбанков, установленным IPGRI (Genebank Standards, 1994). Жизнеспособность семян определяли тетразольно-топографическим методом. Семена хранили при температуре –18 °С в течение 2–6 лет в герметично упакованных фольговых пакетах. Для криоконсервации семена погружали в жидкий азот в герметично закрытых пластиковых пробирках фирмы «Nunc» объемом 2 мл. На семенах отдельных образцов проверяли два режима замораживания: 1) быстрое заморажи-

вание путем погружения пробирок с семенами из комнатной температуры в жидкий азот; 2) двухступенчатое – с предварительным замораживанием пробирок с семенами до –18 °С, и разные режимы оттаивания: 1) на воздухе при температуре 20 °С; 2) в водяной бане в течение 1 мин при температурах от 30 до 50 °С.

Для проращивания семян после криоконсервации и низкотемпературного хранения с целью преодоления их покоя проводили стратификацию в холодильнике при температуре +4 °С.

Для каждого из вариантов брали выборки из 50 семян в 1–2 повторностях.

Результаты и обсуждение

Низкотемпературное хранение (–18 °С) семян крыжовника (табл. 1) в течение 6 лет не вызывало снижения их жизнеспособности.

Аналогичные результаты получены с семенами груши (Сафина, Бурмистров, 2004), яблони и красной смородины (данные не приводятся).

Результаты опытов с разными режимами замораживания–оттаивания семян груши, яблони и красной смородины показали (табл. 2, 3, 4), что используемые режимы замораживания и оттаивания семян достоверно не меняют их жизнеспособность.

Поэтому в дальнейших исследованиях с семенами яблони, черной смородины и крыжовника при криоконсервации использовали самый простой способ – быстрое замораживание до температуры жидкого азота и оттаивание при комнатной температуре. Жизнеспособность во всех случаях остается на уровне исходной (табл. 1, 5, 6).

Таблица 1

Влияние низкотемпературного и криохранения на жизнеспособность семян крыжовника

Название образца	Жизнеспособность, %		
	исходная	после хранения при –18 °С в течение 6 лет	после криоконсервации
<i>Grossularia acicularis</i>	60,5	65,7 ± 5,9	65,8 ± 3,0
<i>Gr. divaricata</i>	54,5	49,1 ± 3,9	68,4 ± 5,8
<i>Gr. reclinata</i>	73,3	80,0 ± 6,3	64,3 ± 6,8
<i>Gr. robusta</i>	64,0	63,1 ± 6,1	74,4 ± 6,1

Таблица 2

Влияние разных температурных режимов замораживания-оттаивания при криоконсервации в жидком азоте на жизнеспособность семян груши

Название образца	Жизнеспособность, %										
	хранение в жидком азоте в течение 40 дней										
	исходная	режим замораживания			предварительное замораживание до -18 °С			режим замораживания			
		прямое погружение			режим замораживания			режим замораживания			
на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане, при t °С		на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане, при t °С		на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане, при t °С		на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане, при t °С	
	30	40		50	30		40	50		30	40
<i>Pyrus elaeagnifolia</i> Pall.N2	92 ± 0	88	92	84	94	83	90 ± 3	86	98	86	98
<i>P. elaeagnifolia</i> Pall.N5	98 ± 2	87	92	—	—	86 ± 2	96	—	—	—	—
<i>P. ovoidea</i> Rehd.	76 ± 8	86	—	57	86	—	—	73	83	73	83
<i>P. pyraster</i> Burgsd. N7	100 ± 0	98	94	—	—	98 ± 2	93	84	94	84	94
<i>P. elaeagnifolia</i> Кр.-4-73	78 ± 2	76	80	68	64	66	70	74	80	74	80
<i>P. caucasica</i> Л-69-104	94 ± 2	96	93	—	—	92	86	98	—	98	—

Таблица 3

Влияние замораживания и различных способов оттаивания на жизнеспособность семян яблони (*Malus cerasifera*) при криоконсервации в жидком азоте

Замораживание, исходная t °С	Жизнеспособность, %			
	исходная	Способ оттаивания		
		на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане при t °С	
		30	40	
-18	99,5 ± 0,5	99,0 ± 1,0	98,0 ± 2,0	99,0 ± 1,0
-20	100,0 ± 0	100,0 ± 0	99,0 ± 1,0	100,0 ± 0

Таблица 4

Влияние различных способов замораживания и оттаивания на жизнеспособность семян красной смородины (*Ribes aureum*) при криоконсервации в жидком азоте

Способ замораживания	Жизнеспособность, %		
	исходная	способ оттаивания	
		на воздухе при t = 20 °С	в водяной бане при t = 37 °С
Прямое погружение в жидкий азот	81,9 ± 6,9	81,6 ± 4,6	86,4 ± 2,2
Предварительное замораживание до –18 °С		78,0 ± 7,6	83,6 ± 1,0

Таблица 5

Влияние криоконсервации семян яблони (*Malus* Mill.) (замораживание семян диких видов с исходной температурой –18 °С, *Malus domestica* – с исходной температурой 20 °С; оттаивание на воздухе при 20 °С) на их жизнеспособность

Название образца	Жизнеспособность, %	
	исходная	после криоконсервации
<i>M. baccata</i> var. <i>sibirica</i>	87,3 ± 4,7	74,3 ± 7,6
<i>M. purpurea</i>	100,0 ± 0	98,0 ± 2,0
<i>M. floribunda</i> сорт Nikita	100,0 ± 0	100,0 ± 0
<i>M. sargentii</i>	83,8 ± 3,8	80,0 ± 5,0
<i>M. soulardii</i>	85,6 ± 3,2	94,0 ± 2,0
<i>M. cerasifera</i>	99,5 ± 0,5	99,0 ± 1,0
<i>M. orientalis</i>	91,0 ± 1,0	94,0 ± 2,0
<i>M. domestica</i> , сорт Caravell	85,7	83,3
<i>M. domestica</i> , сорт Синап Татарский	75,0	69,2

Таблица 6

Влияние криоконсервации на жизнеспособность семян черной смородины

Название образца	Жизнеспособность, %	
	исходная	после криоконсервации
<i>Ribes nigrum</i>	78,6 ± 2,1	81,2
<i>R. nigrum</i> ssp. <i>europaeum</i>	68,4 ± 1,0	71,0
<i>R. nigrum</i> ssp. <i>sibiricum</i>	75,6 ± 3,0	73,2
<i>R. pauciflorum</i>	50,0 ± 1,0	53,7

Далее исследовалось влияние криоконсервации на динамику всхожести семян яблони. Как показали наши опыты, криоконсервация не повлияла на сроки стратификации и ход прорастания.

Динамика прорастания семян яблони у всех исследованных видов за исключением

M. baccata (рис. 1, а) не имела значительных отклонений в вариантах: низкотемпературное (–18 °С) и криохраниение (–196 °С). После криоконсервации прорастание семян *M. baccata* несколько замедлилось, но всхожесть осталась на том же уровне. Период прорастания всех образцов длился не более 100 дней, что укладывается

в обычные рамки стратификации семян яблони. У *M. baccata*, хранившейся при температуре (-18°C), срок стратификации семян закончился на 70-й день. По продолжительности периода от начала стратификации до появления первых зачаточных корешков (у 5 % семян) выделилось 4 группы (рис. 1, а–г; на рис. 1, б, в приведены по одному образцу из данной группы):

а) *M. baccata* с продолжительностью периода – 35 дней; б) *M. purpurea*, *M. domestica* – 55 дней; в) *M. orientalis*, *M. cerasifera*, *M. soulardii* и *M. floribunda* var. Nikita – 65 дней; г) *M. sargentii* – 75 дней.

Наибольшая скорость и интенсивность прорастания (максимальный процент семян

проклюнулись в минимальные сроки) отмечалась у образца *M. baccata*. Наиболее длительного периода прорастания требовали семена *M. sargentii*. Эти образцы принадлежат к различным эколого-географическим группам, поэтому разная скорость прорастания, возможно, связана с их генетическими особенностями.

Анализируя литературные данные, мы предположили, что противоречивые результаты по влиянию различных способов замораживания–оттаивания на жизнеспособность семян различных групп растений связаны с недостаточной степенью их подсушивания, так как оно зачастую производилось в неконтролируемых условиях лаборатории. Возможно, при недо-

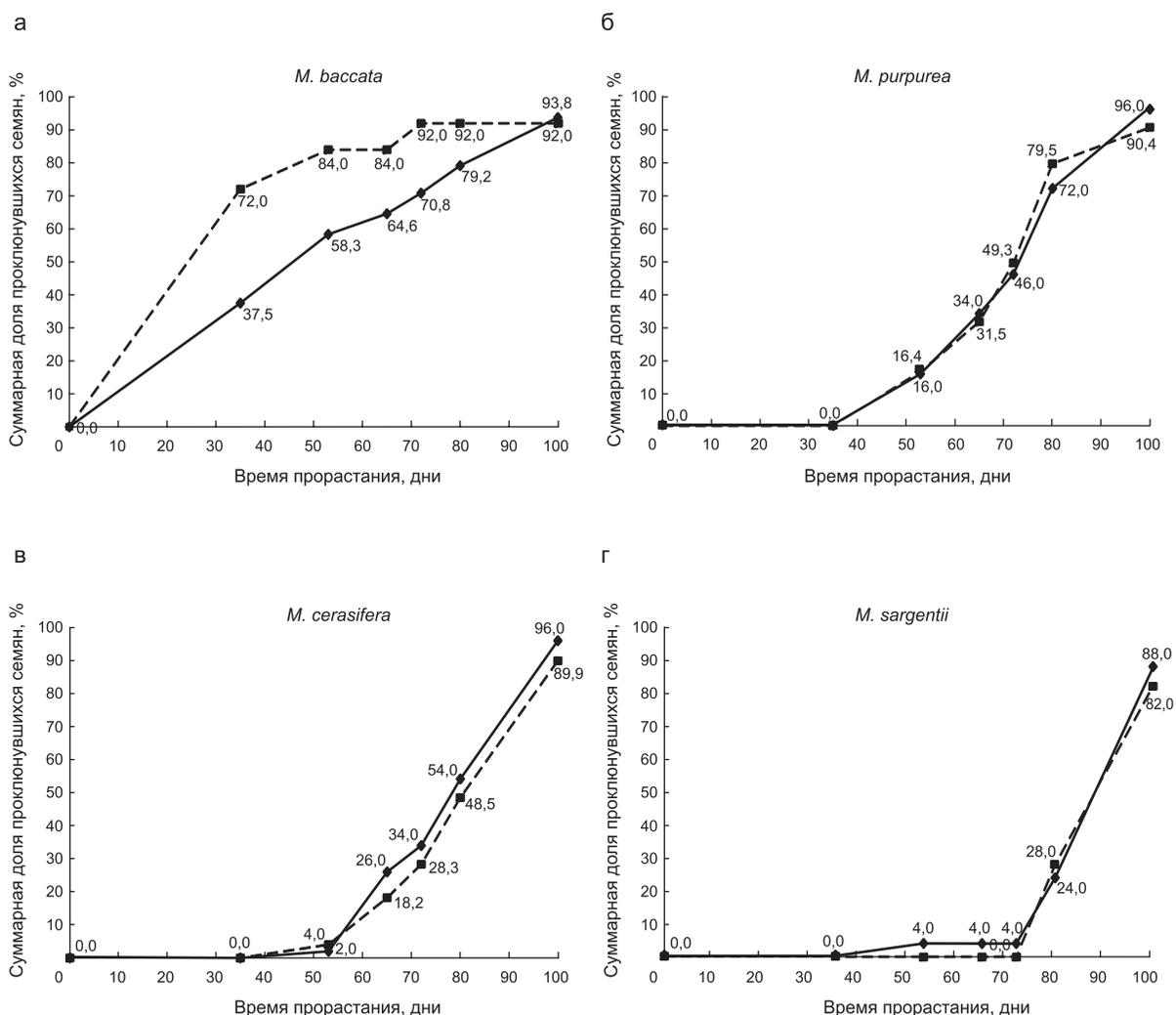


Рис. 1. Динамика прорастания семян яблони после низкотемпературного и криохранилища (а – *Malus baccata*, б – *M. purpurea*, в – *M. cerasifera*, г – *M. sargentii*).

Сплошная линия – криохранилище (-196°C), прерывистая линия – низкотемпературное хранение (-18°C).

статочном подсушивании семян в отдельных случаях оставалась свободная вода, которая при замерзании образовывала кристаллы льда, разрушающие клеточные структуры.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы: при длительном хранении семян важнейшим фактором является влажность. При соблюдении рекомендуемых IPGRI условий ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ с 5–6 %-й влажностью) семена дикорастущих видов плодовых и ягодных культур можно хранить в течение нескольких лет без снижения их жизнеспособности. Кримоконсервация семян исследованных растений с влажностью 5–6 % не влияет на их жизнеспособность, при этом режим замораживания и оттаивания значения не имеет. Поэтому при кримоконсервации рекомендуется использовать самый простой способ – быстрое замораживание путем погружения пробирок с семенами в жидкий азот и оттаивание их при комнатной температуре.

Благодарности

Автор благодарит сотрудников отдела генетических ресурсов плодовых и ягодных культур ВНИИ растениеводства Л.А. Бурмистрова, Н.А. Попкову, О.А. Тихонову и М.Н. Петрову за предоставление растительного материала и консультации.

Литература

- Бурмистров Л.А. Генетические ресурсы плодовых культур и их использование в селекции в свете развития учения Н.И. Вавилова // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 2007. Т. 164. С. 194–207.
- Далецкая Т.В., Полякова Е.Н. Влияние кримоконсервации на прорастание семян и некоторые стороны метаболизма // Биофизика живой клетки. 1994. Т. 6. С. 81–85.
- Лихонос Ф.Д. О происхождении сортов культурной яблони // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1969. Т. 40. Вып. 3. С. 12–32.
- Лихонос Ф.Д. Обзор видов в роде *Malus* Mill. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1974. Т. 52. Вып. 3. С. 16–34.
- Молодкин В.Ю. Значение влажности семян некоторых зерновых и зерновых бобовых культур при кримоконсервации в жидком азоте // Бюл. ВИР. 1986. № 165. С. 22–24.
- Нестерова С.В., Яшина С.Г. Кримоконсервация семян некоторых редких и декоративных растений флоры Дальнего Востока // Биофизика живой клетки. 1994. Т. 6. С. 91–93.
- Попов А.С. Сохранение семян и меристем высших растений с помощью глубокого замораживания. Пуццино: НЦБИ АН СССР, 1982. 15 с.
- Сафина Г.Ф., Бурмистров Л.А. Низкотемпературное и криогенное хранение семян груши *Pyrus L.* // Цитология. 2004. Т. 46, № 10. С. 851.
- Тихонова В.Л., Ильина Л.В., Макеева И.Ю., Яшина С.Г. Влияние низких и сверхнизких температур хранения на лабораторную всхожесть семян дикорастущих травянистых растений. 1. Семена без периода покоя // Криобиология. 1990. № 4. С. 23–28.
- Тихонова В.П., Яшина С.Г., Шабаева Э.В. Изучение роста и развития дикорастущих травянистых растений из семян, прошедших кримоконсервацию // Биофизика живой клетки. 1994. Т. 6. С. 86–90.
- Федосенко В.А. Использование сверхнизких температур для длительного хранения семян (методы и техника) // Бюл. ВИР. 1978. № 77. С. 53–57.
- Genebank Standards. Rome: FAO/IPGRI. 1994.
- Gresshoff P., Gartner E. Cryopreservation of *Arabidopsis thaliana* and other seeds by storage in liquid nitrogen // Arabidopsis Inform. Serv. 1977. V. 14. P. 12.
- Grisez T.J. Black cherry seeds stored 8 years // Tree Planter's Notes. 1976. V. 27. P. 20–21.
- Huntzinger H.J. Long-term storage of black cherry seed – is it effective? // Tree Planter's Notes. 1971. V. 22. P. 3–4.
- Omura M., Sato Y., Seike K. Long-term preservation of Japanese pear seeds under extra-low temperatures // Long-term Preservation of Favourable Germplasm in Arboreal Crops / Eds T. Akihama, K. Nakajama. Rome: IBPGR, 1978. P. 26–30.
- Pence V.C. Germination, desiccation and cryopreservation of seeds of *Populus deltoides* Bartr // Seed science and technology. 1996. V. 24. № 1. P. 151–157.
- Sakai A., Noshiro M. Some factors contributing to the survival of crop seeds cooled to the temperature of liquid nitrogen // Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. 1975. P. 317.
- Sanada T., Yoshida T., Haniuda T. Studies on the method of seed storage in apple breeding. 1. Suitable method for short-term storage // Bull. Fruit Tree Res. Sta. Ser. C. 1980. V. 7. P. 1–14.
- Stanwood P., Bass L. Ultracold preservation of seed germplasm // Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. 1978. 361 p.
- Stanwood P.C., Sowa S. Evaluation on onion (*Allium cepa* L.) seed after 10 years of storage at -5 , -18 , and $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ // Crop Sci. 1995. V. 35. № 3. P. 852–856.

THE INFLUENCE OF LOW AND ULTRALOW TEMPERATURE ON VIABILITY OF FRUIT AND BERRY SEEDS

G.F. Safina

State Scientific Centre N.I.Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St.Petersburg, Russia, e-mail: g.safina@mail.ru

Summary

The influence of low-temperature and cryogenic preservation, as well as of different freezing-thawing modes on seed viability in wild pear, apple, gooseberry, red and black currant species has been studied. Dynamics of apple seed germination has also been tested. Seeds of fruit and berry plants with 5–6 % moisture content have been shown to store at –18 °C for several years without lossing of viability. Provided that moisture content is optimal in seeds of the studied crops, their viability is not influenced by cryopreservation either. The dynamics of germination and stratification requirements do not change in apple seeds under the influence of freezing down at ultralow temperatures. The obtained results show that storage at –18 °C or in liquid nitrogen may be recommended for seeds of wild fruit and berry species.

ГЕРБАРИЙ ТОМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА: ПРОШЛОЕ И НАСТОЯЩЕЕ

И.И. Гуреева

Томский государственный университет, Томск, Россия, e-mail: gureyeva@hotmail.ru

Кратко изложена история возникновения и развития Гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. Приводятся данные о современном составе и объеме хранящихся коллекций.

Ключевые слова: гербарий, флора Сибири, способы хранения.

Herbarium praestat omni icone, necessarium omni botanico.

C. Linnaeus

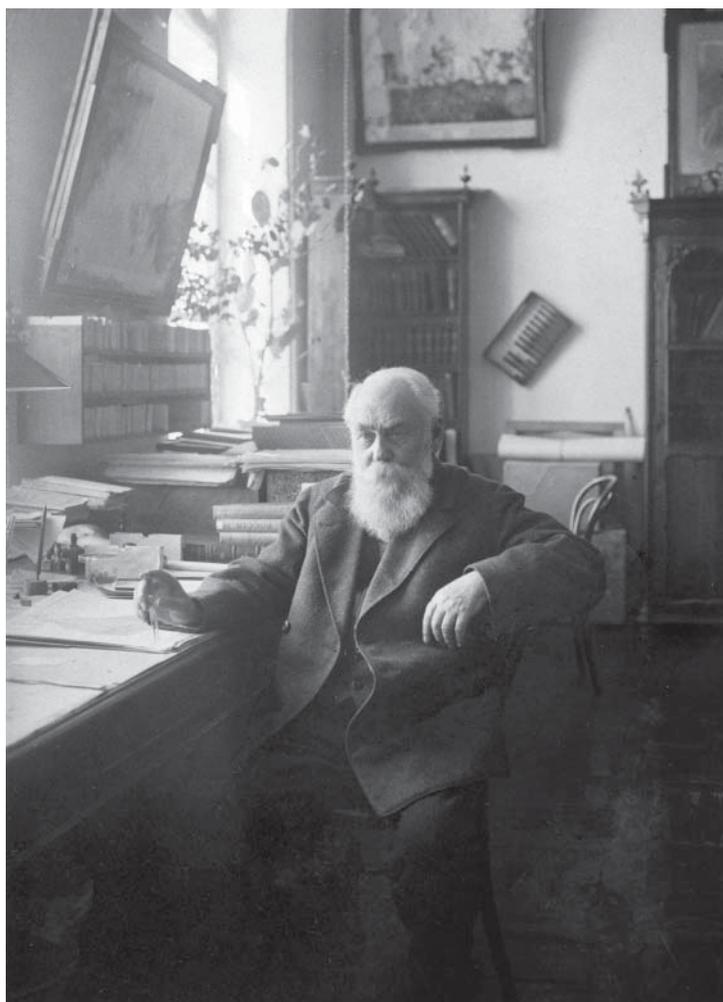
По замыслу одного из основателей первого за Уралом университета В.М. Флоринского, «на личной обязанности которого, помимо контроля строительства, лежала забота о подготовке и сбережении учебного университетского имущества (коллекций для кабинетов, музеев и библиотеки)» (Первый университет ..., 1889, С. 63), в открывающемся Императорском Томском университете должен был быть организован ряд музеев и среди них – Ботанический музей и Ботанический сад. Для организации в университете Ботанического сада и Ботанического музея был приглашен ученый садовник Ботанического сада Императорского Казанского университета П.Н. Крылов, день его приезда в Томск – 4 августа (23 июля по старому стилю) 1885 г. – и считается днем основания Гербария им. П.Н. Крылова. Официально хранителем Ботанического музея П.Н. Крылов был назначен только с июля 1888 г., но уже с момента приезда он начал проводить работу по сбору коллекций засушенных растений и разрабатывать структуру будущего травохранилища.

Приняв приглашение приехать в Сибирь, П.Н. Крылов преследовал цель планомерного изучения растительного покрова этой обширной территории, о чем говорит единственное условие, поставленное им В.М. Флоринскому, – дать возможность и средства для ботанических

исследований этой страны (Шишкин, Сергиевская, 1931). Понимая, что изучать флору и растительность без наличия крупного гербария невозможно, П.Н. Крылов с самого начала превращает Ботанический музей в Гербарий, основной задачей которого является накопление коллекций сухих растений, документирующих состав флоры. По словам Л.П. Сергиевской (1961), П.Н. Крылов «настойчиво, терпеливо, без колебаний шел к осуществлению намеченной цели – организации крупного Гербария на пустом месте при скудных средствах и отсутствии штата».

Первыми коллекциями, которые поступили в Ботанический музей, были небольшая собственная коллекция, привезенная П.Н. Крыловым из Казани, ценные коллекции из путешествия Н. Норденшельда на судне «Вега», Г. Траутшольда из Швейцарии и Г.Н. Потанина из Тарбагатай. Но с первых дней существования Гербария и в течение последующих лет до самой смерти основным коллектором был сам П.Н. Крылов. Сначала он обследовал для сбора гербария ближайшие окрестности Томска, в 1891 г. совершил первое путешествие на Алтай, всего же было 36 экспедиций, охвативших всю Западно-Сибирскую равнину, Алтай, смежные районы Казахстана и Забайкалье.

Создавая Гербарий, П.Н. Крылов тщательно продумал систему хранения и расположения



Порфирий Никитич Крылов в Гербарии.



П.Н. Крылов с учениками в экспедиции (Павлодарский уезд, 1913 г.).

коллекций, при которой они бы менее всего повреждались и которая позволяла бы быстро находить любой вид. Первоначальная система оформления и хранения коллекций сохраняется и в настоящее время. Все образцы монтируются на листы плотной, но тонкой бумаги одного формата, на каждый лист наклеивается этикетка с указанием названия вида на латинском языке, места сбора, характеристикой местонахождения, датой сбора и фамилией коллектора. Листы распределяются по видам и складываются в пачки, каждая пачка помещается в двойной лист (рубашку), на которую наклеивается этикетка и навесной ярлык с латинским названием вида,

пачки в рубашках укладываются в гербарные коробки. Гербарные коробки с откидывающейся задней стенкой и до середины откидывающейся крышкой очень удобны для хранения хрупкого материала, поскольку гербарные листы не вкладываются, а вдвигаются в них. Помещенные на рубашки навесные ярлыки с названиями видов позволяют быстро найти нужный материал при открывании коробки. Кроме того, на лицевой стороне каждой коробки помещена этикетка с названиями хранящихся в ней видов, что тоже значительно облегчает их поиск. Открывая гербарную коробку, каждый работающий с коллекциями видит на ее крышке слова П.Н. Кры-



Cypripedium guttatum Sw. – венерин башмачок пестрый, собранный П.Н. Крыловым около Томского университета в 1886 г.

лова: «Гербарий Томского университета – крупное научное достояние. Десятки лет, трудами многих лиц, с любовью к природе и науке, заботливо создавался и хранился этот результат сложной коллективной работы. На нем возникла “Флора Алтая и Томской губернии”, без него невозможно и дальнейшее изучение растительности Сибири. Чтобы сотни тысяч сухих и хрупких растений этого гербария могли долгие годы служить делу изучения Сибирской флоры, необходимо всеми мерами охранять его от разрушения и беспорядка. Более четверти века я хранил Гербарий Томского университета и вложил в него свои сборы, произведенные в сорокалетний период. Оставляя теперь заведование этим Гербарием, я считаю себя вправе обратиться к работающим с ним: Вашему попечению вверяется охрана целостности и порядка Гербария и его дальнейшее развитие».

Еще до приезда в Томск П.Н. Крылов заказал из Перми очень высокого качества бумагу для монтирования растений и получал ее позднее, обеспечив тем самым Гербарий бумагой на долгие годы. Для печатания этикеток была заведена специальная ручная типография – наборный штамп, позволявший тиражировать этикетки, что существенно облегчало и ускоряло обработку собранных коллекций. Для хранения растений П.Н. Крылов заказал специальные шкафы. Первые шкафы были изготовлены из древесины кедра (*Pinus sibirica* Du Tour), имели стеклянные

дверцы, украшенные деревянной резьбой. Эти шкафы, первые из которых были изготовлены еще в 1888 г., стоят сейчас в центральном зале Гербария, в них хранится самая крупная коллекция – коллекция флоры Западной Сибири. Шкафы, изготовленные в последующие годы, – более простого вида, с деревянными дверцами. Специально для разборки коллекций были заказаны удобные составные столы, которые стоят посередине каждого зала, а у окон – столы для работающих с гербарными коллекциями.

Вначале для Ботанического музея был выделен один зал, но почти сразу же П.Н. Крылов, предвидя быстрый рост коллекций, добился выделения еще одного зала. В 1929 г. к Гербарию присоединили прилегающий коридор, который уже к 1940 г. был полностью заставлен шкафами. Во время Великой Отечественной войны Гербарий находился в актовом зале научной библиотеки. В 1945 г. он был возвращен на прежнее место, получив вместо коридора еще два смежных зала.

Для расположения коллекций в Гербарии с самого начала было принято подразделение на отделы, соответствующие крупным территориям. До 1914 г. было выделено 4 отдела: «гербарий Алтая и Томской губернии», «гербарий Туркестана», «гербарий Монголии» и «общий гербарий» (из разных стран мира). В последующие годы появились новые отделы, в том числе и те, коллекции которых используются для демонстраций на лекциях и экскурсиях.



Центральный зал Гербария им. П.Н. Крылова.

В настоящее время Гербарий Томского университета входит в число крупнейших Гербариев Российской Федерации. По способу хранения коллекций, продуманной системе информации и образцовому порядку Гербарий им. П.Н. Крылова считается одним из лучших в стране. Нынешние научные ценности Гербария – результат многолетнего коллективного труда: в сборе гербарных материалов принимали участие более 2000 коллекторов, общий объем коллекций составляет более 500 тыс. гербарных листов. В этих коллекциях достоверно отражена почти 125-летняя история растительного покрова Сибири, в Гербарии хранятся также обширные коллекции флоры Средней Азии, Тувы и Монголии и коллекция общего гербария, содержащая образцы растений флоры Европы, Америки, Восточной Азии и других стран. На основе коллекций Гербария П.Н. Крыловым была написана «Флора Алтая и Томской губернии» (1901–1914), затем им же при участии учеников – Б.К. Шишкина, Л.П. Сергиевской, Е.И. Штейнберг, Л.Ф. Ревердатто, Г.П. Сумневича – была создана фундаментальная, не утратившая своего значения и в настоящее время «Флора Западной Сибири» (1927–1964). Во второй половине XX в. по материалам Гербария была написана «Флора Красноярского края» (1960–1983), коллекции Гербария в полном объеме были использованы при создании «Флоры Сибири» (1988–2003). Материалы Гербария ТГУ, главным образом, дублиеты, поступившие в фонды Гербария Ботанического института им. В.Л. Комарова (БИН), использовались при создании «Флоры СССР» (1934–1960), одним из редакторов которой, а в конце издания – главным редактором был один из первых учеников П.Н. Крылова Б.К. Шишкин.

Важный показатель, характеризующий фонды и ценность любого Гербария, – число типовых (аутентичных) образцов, по которым описаны виды, подвиды, разновидности. Ни в одном Гербарии число аутентиков неизвестно, поскольку выделение их в отдельную коллекцию принято не везде, кроме того, выявление типов видов, особенно описанных до середины XX в., – дело не одного года и даже десятилетия. В Гербарии Томского университета типовые образцы вначале хранились в составе разных коллекций, выделение их в отдельную коллекцию нача-

лось только в 1980 г. по инициативе А.В. Положий, заведовавшей в то время Гербарием. В настоящее время коллекция типов включает голотипы, изотипы, лектотипы, изолектотипы и синтипы, более 500 таксонов (видов, подвидов и разновидностей), всего около 700 гербарных листов, в основном из Сибири, а также типовые образцы, полученные из других Гербариев. Основу коллекции (около 250 образцов) составляют типы таксонов, встречающихся на территории Сибири, описанных в основном ботаниками Томского университета П.Н. Крыловым, С.И. Коржинским, В.В. Сапожниковым, Л.П. Сергиевской, Б.К. Шишкиным, В.В. Ревердатто, Г.П. Сумневичем, А.В. Положий. Кроме того, в коллекции имеются типовые образцы видов, описанных Н.С. Турчаниновым, С.И. Коржинским, А.Г. Шренком, А.Э. Регелем, А.А. Бунге, И.М. Крашенинниковым. Коллекция типов значительно пополнилась при пересмотре отдела флоры Средней Азии: из материалов, собранных известными исследователями Г.С. Карелиным и И.П. Кириловым, было выделено 142 типовых образца (главным образом, изолектотипы).

Отдел Западной Сибири – самый первый отдел Гербария – насчитывает около 65 тыс. гербарных листов. В нем представлены сосудистые растения Западной Сибири и частично смежных районов Урала и Северного Казахстана. Основу этой коллекции составляют многолетние сборы П.Н. Крылова с Урала, Алтая, Кузнецкого Алатау, Северного и Восточного Казахстана и Западно-Сибирской равнины. Сюда вложены богатейшие коллекции В.В. Сапожникова с Алтая, из Обской Арктики, Томской области, Б.К. Шишкина с Алтая, В.В. Ревердатто и Л.Ф. Ревердатто с Алтая, Кузнецкого Алатау и степей Западной Сибири, Л.П. Сергиевской из Томской области и других районов Западной Сибири и Казахстана, Г.П. Сумневича с Алтая и Нарымского хребта и др. Здесь хранятся сборы ботаников томской школы Л.В. Шумиловой, А.В. Куминовой, Л.И. Оболенцева, Л.Б. Колокольникова и др. После создания при Томском университете в 1968 г. НИИ биологии и биофизики (НИИ ББ при ТГУ) отдел значительно пополнился в результате проведения лабораторией флоры и растительных ресурсов экспедиций по изучению растительных ресурсов Алтая. Большие коллекции были собраны Н.Ф. Вылцан, Е.П. Прокопьевым, А.С. Ревушкиным.

Отдел Приенисейской Сибири (территории от полуострова Таймыр до высокогорий Саян) возник еще в начале XX в., но не был надлежащим образом оформлен. В советский период коллекции этого отдела увеличились многократно и сейчас включают около 45 тыс. гербарных листов. Основу коллекции составляют сборы из многочисленных экспедиций В.В. Ревердатто. Сборы коллекций на этой территории продолжали и его ученики. Прекрасные сборы с Саян сделаны М.В. и А.В. Куминовыми, С.И. Глуздяковым, С.В. Гудошниковым. Здесь же хранятся сборы П.Н. Крылова, сделанные в 1892 г. на Мирском и Араданском хребтах.

Отдел Восточной Сибири содержит около 45 тыс. гербарных листов. Отдел возник в 1930 г. с первой экспедиции П.Н. Крылова и Л.П. Сергиевской в Забайкалье и особенно разросся в результате последующих 23 экспедиций Л.П. Сергиевской.

Отдел Тувы и Монголии включает около 16 тыс. гербарных листов, в том числе ценнейшие сборы, сделанные еще в конце XIX – начале XX вв. Основу коллекции составили гербарные сборы П.Н. Крылова и Б.К. Шишкина из Урянхайского края (Республика Тыва), Г.Н. Потанина и Б.К. Шишкина из Монголии, В.В. Сапожникова из Монгольского Алтая, большой материал из 4 экспедиций в Туву доставлен К.А. Соболевской.

Отдел Средней Азии был образован как «гербарий Туркестана» в самом начале существования Гербария ТГУ, окончательно коллекция была оформлена Л.П. Сергиевской в конце 1930-х гг. Сейчас коллекция включает около 40000 гербарных листов. Основу ее составили сборы Г.Н. Потанина с Тарбагатая, богатые и ценные материалы поступили из экспедиций В.В. Сапожникова и Б.К. Шишкина в Семиречье и Зайсанский уезд, ценные коллекции получены от Н.В. Павлова, сюда же поступили дублеты знаменитых исследователей Средней Азии А.Г. Шренка, А.Э. Регеля, Г.С. Карелина и И.П. Кирилова.

Общий отдел Гербария, включающий гербарные образцы, собранные вне территории Сибири (Европа, Северная и Южная Америка, Япония, Китай, Дальний Восток России), содержит более 66 тыс. образцов. В основу коллекции положены сборы самого П.Н. Крылова, привезенные им из Казани, в отдел вошла переданная В.М. Флорин-

ским коллекция Г. Траутшольда из Швейцарии. Здесь хранятся сборы И.П. Бородин, Н.А. Буша, В.И. Липского, И.Ф. Шмальгаузена, В.Л. Комарова, Н.В. Павлова, С.Ю. Липшица и др.

Дублетный отдел Гербария очень крупный и непостоянный по числу хранящихся образцов, в настоящее время содержит более 20 тыс. гербарных листов. В нем сосредоточены дублетные (повторные) экземпляры сосудистых растений, главным образом с территории Сибири. Материалы дублетного фонда хранятся немонтированными, без коробок и используются для обмена с другими Гербариями, а также для научной работы докторантов, аспирантов, студентов.

Для того чтобы Гербарий стал настоящим ботаническим центром Сибири, П.Н. Крылов почти с момента его создания начал собирать библиотеку специальной ботанической литературы. Библиотека постоянно пополнялась и к настоящему времени насчитывает более 20 тыс. изданий, в числе которых классические труды К. Линнея, И.-Г. Гмелина, П.С. Палласа, К.Ф. Ледебура, А.А. Бунге, А. Энглера и др.

За 120 лет существования Гербарий Томского университета возглавляли П.Н. Крылов (1885–1931 гг.), В.В. Сапожников (в период работы П.Н. Крылова в Петрограде, 1914–1917 гг.), Л.П. Сергиевская (1931–1970 гг.), А.В. Положий (1970–2002 гг.), с 2002 г. – И.И. Гуреева.

Штат Гербария всегда был небольшим. С момента основания Гербария (Ботанического музея) единственным сотрудником был сам П.Н. Крылов, выполнявший всю гербарную работу – от сбора и сушки растений до определения, монтирования и инсерации образцов. В 1921 г. Гербарию были даны еще две штатные единицы – препаратора и младшего хранителя, на последнюю была принята выпускница Высших женских курсов Л.П. Сергиевская. В последние 10 лет жизни и работы П.Н. Крылова она стала его основным помощником во всех делах – в экспедициях, в гербарной и научной работе. В начале XX в. у П.Н. Крылова и В.В. Сапожникова появились первые ученики из числа студентов медицинского факультета Томского университета – Б.К. Шишкин и Л.А. Уткин, Технологического института – В.В. Ревердатто и слушательниц Высших сибирских женских курсов – Л.Ф. Покровская-Ревердатто, Е.В. Никитина, позже – Л.П. Се-

ргиевская. Они работали в Ботаническом музее у П.Н. Крылова и в Ботаническом кабинете у В.В. Сапожникова, участвовали в экспедициях, организовывали самостоятельные маршруты.

Большой вклад в развитие Гербария внесла Л.П. Сергиевская, работавшая в Гербарии с 1921 г., а в 1931 г. ставшая заведующей. Всего за 10 лет с момента поступления на работу она при помощи двух препараторов разобрала и привела в надлежащий порядок все сборы, накопившиеся в Гербарии со дня его основания: на все материалы составлены инвентарные книги, проведены подсчеты гербарных листов и к 1931 г. все имевшиеся коллекции (около 200 тыс. гербарных листов) стали доступны для широкого пользования. Она участвовала в начатой еще в 1918 г. П.Н. Крыловым реконструкции отделов Гербария, из которых только отдел флоры Алтая и Томской губернии (сейчас отдел Западной Сибири) и общий были оформлены, остальные 5 – Приенисейской и Восточной Сибири, Туркестана (сейчас отдел Средней Азии), Монголии, дублетный – лишь намечены. Впоследствии ею были организованы новые отделы (мохообразные, лишайники, тропическая флора, арктическая флора, учебная коллекция). Сборы Л.П. Сергиевской значительно дополнили фонды Гербария: за 40-летний период ее работы количество хранящихся гербарных материалов удвоилось и достигло 400 тыс. Она активизировала обмен коллекциями со многими отечественными и зарубежными ботаническими учреждениями и сохранила Гербарий в чрезвычайно трудных условиях во время Великой Отечественной войны.

В 1970 г. на должность заведующего Гербарием была назначена А.В. Положий. Она

проработала заведующей Гербарием 32 года, ее сборы значительно дополнили отдел флоры Приенисейской Сибири. Во время заведования А.В. Положий в Гербарии был самый большой штат, в середине 1980-х гг. в Гербарии работало 17 штатных сотрудников, а наиболее продуктивными для пополнения Гербария были 1970–1980-е гг., когда совместно с НИИ ББ при ТГУ проводились длительные экспедиции в Туву, Забайкалье, на Алтай и Кузнецкий Алатау.

Имена создателя и хранителей Гербария – П.Н. Крылова, Л.П. Сергиевской и А.В. Положий запечатлены в названиях видов. В честь П.Н. Крылова назван род *Krylovia* Schischkin и более 50 видов, среди которых *Hieracium porphyrii* Schischk. et Serg., *Poa krylovii* Reverd., *Veronica krylovii* Schischkin, имя Л.П. Сергиевской видим в названиях *Lotus sergievskiae* R. Kam. et Kovalevsk., *Potentilla lydiae* Kurbatsky, *P. sergievskajae* Peschkova, *Veronica sergievskiana* Polozhij, в честь А.В. Положий назван *Astragalus polozhiae* Timoch., *Taraxacum polozhiae* Kurbatski, *Veronica polozhiae* Revusch. и др.

Материалы томского Гербария весьма востребованы ботаниками, работающими не только в Томске, но и в других городах России и за рубежом.

Литература

- Первый университет в Сибири. Томск: Изд. ред. «Сибирского вестника», 1889. 93 с.
 Сергиевская Л.П. Гербарий имени П.Н. Крылова при Томском государственном университете им. В.В. Куйбышева. К 75-летию со дня основания. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1961. 56 с.
 Шишкин Б.К., Сергиевская Л.П. П.Н. Крылов и его научная деятельность // Изв. Томск. отд. Гос. Русского бот. об-ва. 1931. Т. 3, № 1/2. С. 1–16.

HERBARIUM OF TOMSK UNIVERSITY: THE PAST AND THE PRESENT

I.I. Gureyeva

Tomsk State University, Tomsk, Russia, e-mail: gureyeva@hotmail.ru

Summary

The story of foundation and development of the Herbarium in Tomsk State University is briefly described. The data on modern composition and volume of stored collections are given.

СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ МИРОВОЙ ФЛОРЫ В СИБИРСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ТОМСКОГО ГОСУНИВЕРСИТЕТА

В.А. Морякина, Т.П. Свиридова, Т.Н. Беляева, Г.Я. Степанюк,
В.П. Амельченко, Н.С. Зиннер

Сибирский ботанический сад Томского государственного университета, Томск, Россия,
e-mail: sbg125@yandex.ru

В статье показана роль Сибирского ботанического сада ТГУ в решении вопросов сохранения биоразнообразия растений мировой флоры и Сибири, в частности, интродукции и селекции растений для сохранения и обогащения генофонда полезных, редких и исчезающих видов. Дана информация об основных очагах привлечения интродуцентов для «сибирских тропиков и субтропиков», декоративных и лекарственных растений для открытого грунта. Показана эффективность использования клонального микроразмножения для особо ценных редких тропических орхидей. Обосновывается значение изучения интродуцентов в созданных коллекциях внутривидового разнообразия и родовых комплексах для сохранения мирового генофонда растений. На примере Заповедного парка СибБС ТГУ показана роль интродукционных и реинтродукционных работ с использованием кариологических исследований, для сохранения биоразнообразия растений конкретной флоры, в том числе и редких видов.

Ключевые слова: биоразнообразие, мировая флора, интродукция.

Сибирский ботанический сад Томского государственного университета (СибБС ТГУ) (основан в 1880 г. на площади около 3 га) является первой базой в азиатской части России по привлечению, изучению и пропаганде новых видов и форм растений для разнообразных научных и практических целей. В настоящее время это крупное научно-исследовательское учреждение, ведущее на 126 га крупные интродукционные исследования. Уникальный генофонд отечественной и мировой флоры насчитывает свыше 6000 видов, форм и сортов.

Особую научную ценность представляет интродукция видов субтропических и тропических флор. В оригинальном оранжерейно-тепличном комплексе высотой от 6 до 31 м (построен в 1971–1973 гг., 1985–1988 гг.) на 6500 м² теперь выращивается свыше 1700 видов тропических и субтропических растений. Для создания уникальных для севера планеты «тропиков и субтропиков» потребовалась разработка температурных, влажностных и других параметров для успешного роста и развития тропических

и субтропических интродуцентов с учетом их природных экологических требований. На их основе созданы 15 различных микроклиматов от холодных субтропиков до влажных тропиков.

После многолетнего изучения ритма роста и развития интродуцированных растений был сделан эколого-географический анализ (Морякина, 1976, 1980), который позволил выявить, что основными очагами привлечения интродукционного материала из ботанических учреждений мира для оранжерейных экспозиций СибБС ТГУ явились:

1. Средиземноморское побережье Европы. Зона вечнозеленых жестколистных лесов и кустарниковых зарослей: Португалия (Лиссабон, Коимбра, Опорто), Испания (Барселона, Валенсия), Франция (Монпелье, Канн, Антибес), Италия (Рим, Триест, Генуя, Ферраро, Палермо). Данная зона представлена в наших оранжереях маслиной европейской (*Olea europea* L.), лавром благородным (*Laurus nobilis* L.), пальмой хамеропсом приземистым (*Chamaerops humilis* L.), олеандром лекарственным (*Nerium*



Фрагмент оранжерейно-тепличного комплекса Сибирского ботанического сада ТГУ.

oleander L.), миртом обыкновенным (*Myrtus communis* L.) и др.

2. Южная Африка. Зона саванн, ксерофитных лесов и кустарниковых зарослей (Мозамбик, Ангола и др.): виды из семейств Acanthaceae (*Acanthus montanus* L., *Crosandra nilotica* Oliv.), Aizoaceae (*Delosperma echinatum* Schwant.), Asclepiadaceae (*Ceropegia bulbosa* Roxb., *Stapelia gigantea* N. Br.), Asteraceae (*Senecio articulatus* (L.f.)), Agavaceae (*Sansevieria thyrsoflora* Thunb., *S. trifasciana* Prain.) и др.

3. Австралия. Зона субтропических вечнозеленых лесов и скрэбов юго-востока и востока страны (Мельбурн, Канберра, Сидней), прибрежная полоса тропического леса на северо-востоке материка (Таунсвилл) и влажные субтропические вечнозеленые леса острова Тасмании и Новой Зеландии (Крайстчерч). Из австралийской флоры в оранжереях представлены виды родов *Casuarina*, *Callistemon*, *Eucalyptus*, виды *Araucaria bidwillii* Hook., *Howea forsteriana* Весс., возраст которой около 140 лет, высота дерева 15 м.

4. Десятки лет растут в наших оранжереях виды пальм, фикусов, орхидей юго-восточной Азии и прилегающих океанических островов интродукции 1950–1980 гг.: *Arenga pinnata* (Wurmb.) Merr., *Cariota mitis* Lour., *Livistona chinensis* R. Br., *Ficus carica* L., *Ficus elastica*

Roxb. ex Hornem, *Coelogyne cristata* Lindl., *Dendrobium nobile* Lindl. Хороший результат дала интродукция растений из влажных вечнозеленых лесов Японии: (*Camellia japonica* L., *Aucuba japonica* Thunb.) и др.

5. Флору Южной Америки в нашем саду представляют *Franciscea macrophylla*, *Butia capitata* Весс., *Cereus peruvianus* Mill., *Acca sellowiana* (Breg) Burre. Свыше 20 лет успешно росло и плодоносило *Theobroma cacao* L.

6. Неплохой результат дала интродукция субтропических растений из влажных субтропических лесов Северной Америки: *Cupressus lawsoniana* Parl., *Thuja gigantea* Nutt., *Magnolia grandiflora* L.

Размещение тропических и субтропических растений в оранжерейном комплексе СибБС ТГУ основывается на экологическом принципе с учетом природных требований к освещенности, температурному режиму, рН почвы (Морякина, Степанюк, 2002).

Значительное место в «тропиках» Сибирского ботанического сада занимают орхидные, представленные у нас 60 видами. Особое внимание уделяется размножению *in vitro* тропических орхидей, большинство из которых относится к редким и исчезающим растениям мира (Белоусова, Денисова, 1983). В настоящее время в лаборатории семеноведения и биотех-



Howea forsteriana Весс. – эндемик острова Лорд-Хау.

нологии отработаны методики микрклонального размножения фаленопсиса приятного (*Phalaenopsis amabilis* (L.)BL.) и фаленопсиса гибридного (*Phalaenopsis hybridum*) разных сортов (Степанюк, 2005).

Благодаря освоению методик искусственного опыления цветков тропических орхидей в СибБС ТГУ разрабатываются технологии их семенного размножения *in vitro*, в том числе для дендробиума фаленопсисовидного (*Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.), каттлеи средней (*Cattleya intermedia* Qurab.), фаленопсиса гибридного



Тропическая орхидея *Phalaenopsis hybridum*.

(*Phalaenopsis hybridum*) и ванды трехцветной (*Vanda tricolor* Ldl.).

В Сибирском ботаническом саду ТГУ достигнута высокая результативность интродукции растений и создания экспозиций декоративных растений открытого грунта: древесных, кустарниковых – 774 и травянистых растений – 790 таксономических единиц.

Успех интродукции древесных и кустарниковых растений из различных регионов северного полушария в СибБС ТГУ (лесная зона Западной Сибири) определен уровнем постановки интродукционного эксперимента: массовостью и обширной географией привлечения интродукционного материала, обеспечившими сравнительное изучение интродуцентов и отбор наиболее устойчивых видов. Это стало возможно в связи с применением начиная с 1960-х гг. метода родовых комплексов Ф.Н. Русанова (1950). Использование данного метода имеет огромное значение для определения адаптивных и полезных свойств не только отдельных видов, но и представителей целой филогенетической ветви растений, что значительно расширяет возможности исследователя. В Сибирском ботаническом саду ТГУ широко используется метод родовых комплексов при интродукции различных групп полезных растений (Морякина, Свиридова, 1995). В настоящее время созданы

уникальные в Сибири по своему составу родовые комплексы декоративных древесных и кустарниковых растений. По данным 2005 г. наиболее представленными родами в дендрофондах СибБС ТГУ являются: *Spiraea* – 65 видов, *Rosa* – 51, *Lonicera* – 45, *Crataegus* – 39, *Philadelphus* – 27, *Betula* – 24, *Berberis* – 23, *Salix* – 20, *Syringa* – 19. Наиболее полно представлено сем. Rosaceae – 155 (в лесах Томского Приобья произрастает дико лишь 6 видов *Spiraea*, *Rosa*, *Crataegus*). Эколого-географический анализ дендроинтродуцентов (Морякина, 1971) показал, что успешно введены в культуру в южной части Томской области виды, характерные для восточно-азиатского ареала, северо-восточной части европейского ареала, отдельных районов Северной Америки.

Анализ группы декоративных травянистых растений показал, что наибольшим числом таксонов представлены семейства Liliaceae, Iridaceae, Paeoniaceae, Asteraceae, Amaryllidaceae, Polemoniaceae и др. Основными методами интродукции при изучении декоративных травянистых растений являются эколого-географический и метод родовых комплексов, дополненный сортовым разнообразием (Беяева, 2002; Беяева, Прокопьев, 2005, 2006). Широко представленные в коллекции декоративных травянистых растений, голарктические и евразийские виды отнесены к группе очень перспективных и перспективных. Более термофильные кавказские и балканские виды в целом менее перспективны для интродукции в Томске, чем североευропейские и центральноевропейские. Среди интродуцентов из Средиземноморья и Южной Европы наиболее зимостойки в СибБС горные и высокогорные виды: *Aubrieta deltoidea* (L.) DC., *Cerastium tomentosum* L. и др. Из азиатских видов наиболее перспективны для интродукции североазиатские виды и интродуценты из Маньчжурской и горных районов Японо-Корейской провинции Восточно-Азиатской флористической области: виды *Astilbe* Burch. – Nam. ex D. Don, *Hosta* Tratt, *Hemerocallis* L. и др. Наименее зимостойки виды из Китая: *Lilium regale* Wils., *Paeonia suffruticosa* Andr. и др. Существенна доля перспективных видов в группе передне-центральноазиатских многолетников. Значительное количество интродуцированных декоративных многолетников

(35 %) составляют североамериканские виды: *Solidago canadensis* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench., виды *Phlox* L., *Erigeron* L., *Tiarella* L., *Heuchera* L. и др. Незначительно представлены в коллекции интродуценты из Южной Африки (не зимующие в грунте) и Новой Зеландии – виды *Acaena*, *Mutis. ex* L.

Изучение эндемичных видов является одной из приоритетных задач в связи с общей тенденцией выявления и сохранения биологического разнообразия. Ограниченное распространение, характерное для эндемичных видов, делает их весьма уязвимыми к неблагоприятным воздействиям естественного и антропогенного характера. Коллекция декоративных растений открытого грунта включает 8 эндемичных видов: *Brunnera sibirica* Stev., *Paeonia wittmanniana* Hartw. ex Lindl., *Potentilla nepalensis* Hook., *Lilium regale* Wils. и др.

Коллекционный фонд СибБС представлен 546 сортами и формами, в том числе 36 сортами нарцисса (трубчатые, крупно- и мелкокорончатые, тацетовидные, поэтические, махровые, разрезнокорончатые), 85 сортами лилий, 50 сортами гладиолуса, 52 сортами пиона молочнокветкового и лекарственного, 34 сортами флокса, 31 сортом астильбы и др.

Большинство сортов коллекции проявляют высокую жизнеспособность, характеризуются ценными декоративными и хозяйственно-биологическими признаками.

Традиционным направлением исследований в СибБС является изучение лекарственных растений, начатое в конце девятнадцатого столетия. С 1972 г. интродукционное изучение лечебных трав было продолжено с привлечением фитохимических методов. Был начат интродукционный эксперимент с привлечением лекарственных растений из различных регионов бывшего СССР и мира (в основном стран Европы) семенами, выписанными по делектусам, а также живыми растениями из экспедиционных поездок (Томская область, Кемеровская область, Алтай, Саяны, Урал, Дальний Восток, о. Сахалин). В условиях культуры в течение 35 лет прошли интродукционные испытания свыше 400 видов лекарственных растений. В настоящее время экспозиция насчитывает свыше 350 видов, из них около 250 устойчивых и высокоустойчивых в условиях юга Западной Сибири.



Фрагмент экспозиции сортового разнообразия *Peonia* L.



Фрагмент экспозиции лекарственных растений.

Среди высокоустойчивых имеются представители флоры Европы: (*Digitalis grandiflora* Mill., *Aquilegia vulgaris* L.), горных систем Средней Азии: (*Adenostyles platyphylloides*, *Valeriana alliarifolia*), Алтая (*Allium altaicum* Pall). Данные виды в почвенно-климатических условиях лесной зоны Западной Сибири цветут, плодоносят, дают обильный самосев, самовозобновляются (Свиридова, Кузнецова, 1995). К неустойчивым видам отнесены представители флор Крыма, Средиземноморья, южных областей Европы: *Digitalis purpurea* L., *Salvia aethiopsis* L. и др.

Растительные фонды лекарственных растений представлены и коллекциями внутривидового разнообразия отдельных видов. В результате изучения *Rhodiola rosea* L. (5 образцов разного географического происхождения) *Lychnis chalconica* L. (18), *Inula helenium* L. (13), *Althaea officinalis* L. (11) и т. д. выявлены различия по многим биоморфологическим показателям: ритму сезонного развития, размеру надземных и подземных органов, семенной и сырьевой продуктивности, массе 1000 штук семян, содержанию биологически активных веществ в сырьевых органах. Показателем пример гетерогенности изученных видов по наличию действующих веществ. У *Rhodiola*

rosea L. содержание солидразида в изученных растениях третьего года жизни в зависимости от эколого-географического происхождения колеблется от 0,31 до 0,93 %, у *Lychnis chalconica* L. содержание экидистерона от 0,14 до 0,48 %, у *Althaea officinalis* L. содержание полисахаридов от 15,2 до 30,8 % (Свиридова, 1997; Свиридова, Зибарева, 1998). В СибБС ТГУ на основе отобранных продуктивных образцов созданы полупроизводственные плантации отдельных видов.

Метод родовых комплексов Ф.Н. Русанова (1950) является одним из ведущих, используемых в СибБС ТГУ при изучении лекарственных растений. (Свиридова, 2003; Амельченко, 2006). Тридцатилетнее интродукционное изучение 11 видов рода *Rhodiola* выявило возможность успешного выращивания в условиях сибирского региона наряду с родиолой розовой еще родиолы перситонадрезанной, линейнолистной и арктической, при этом по наличию действующих веществ культивируемые растения не уступают дикорастущим.

В условиях лесной зоны Западной Сибири возможно выращивание видов из рода *Rhaponticum* Ludw. Изучение 5 видов данного рода позволило выявить рапонтикум сафлоро-



Плантация золотого корня, *Rhodiola rosea* L. (отборные образцы).

видный и хамарский как наиболее перспективные для выращивания, при этом рапонтикум хамарский рекомендован для дальнейших исследований как перспективный заменитель сырья рапонтикума сафлоровидного (маралий корень) и источник получения экдистероидов (Свиридова и др., 1993). В настоящее время созданы и всесторонне изучаются виды в родовых комплексах *Silene*, *Hedysarum* L. и др. (Свиридова, Зиннер, 2008).

Особое значение приобретает сохранение биоразнообразия в различных резерватах как местного, так и регионального значения. В Заповедном парке (СибБС ТГУ) на базе естественной и полуестественной растительности проведен интродукционный и реинтродукционный эксперимент. Научный эксперимент проводится в СибБС на базе оригинальных научных коллекций, в которых изучено более 200 редких видов местной флоры. Созданы интродукционные популяции отдельных модельных объектов из родов *Allium*, *Alfredia*, *Brunnera*, *Polygonatum*, *Fragaria* и др. Изучение проводится на основе цитогенетических, популяционных, ботанико-интродукционных и реинтродукционных подходов (Амельченко, Малахова, 1994).

Впервые в условиях Заповедного парка, расположенного в центральном районе города Томска, проведено кариологическое исследование его флоры. Получена первичная информация о структурной организации хромосомного аппарата для наиболее массовых, а также редких и исчезающих видов растений: изучены кариотипы – морфология хромосом, В-хромосомы. Определены числа хромосом у 130 видов, относящихся к 106 родам и 36 семействам. Подсчет числа хромосом показал, что ядро флоры Заповедного парка сформировано за счет как диплоидов, так и полиплоидов. Отмечено преобладание диплоидов (63,8 %) по сравнению с полиплоидами (36,2 %). Следовательно, условия парка не вызывают резких изменений наследственного аппарата у обитающих здесь видов растений и являются благоприятными для диплоидных цитотипов (Малахова, 1998; Малахова, Зайкова, 2000). Таксономический анализ флоры Заповедного парка показал, что из 399 выявленных здесь видов 53,6 % относятся к апофитам, 46,4 % – к адвентам. Группа адвентов неоднородна, в ее состав входят ра-

стения различной природы: 1) трансплантаты (16 видов); 2) растения, натурализовавшиеся из культуры, или эргазиофиты (60 видов); 3) сорно-рудеральные (109 видов). За последние десятилетия наблюдаются увеличение доли адвентов и уменьшение численности редких видов. В связи с этим нами начато изучение способов восстановления таксономического разнообразия флоры, в том числе редких видов. Проведено интродукционное исследование около 100 видов и отобраны наиболее интересные и перспективные объекты для последующей реинтродукции (около 30 видов). В первую очередь это редкие и исчезающие виды как особо ценный компонент флоры. Всего в парке было испытано более 90 видов, 33 из которых оказались наиболее устойчивыми, а 5 образуют полноценные популяции *Paeonia anomala* L., *Erythronium sibiricum* (Fischer et Meyer) Krylov и др. (Амельченко, 1998).

Таким образом, деятельность Сибирского ботанического сада Томского университета с его уникальным для северных регионов планеты растительным генофондом разнообразных представителей мировой флоры трудно переоценить для сохранения биоразнообразия как потенциала реинтродукции видов в природные места обитания, создания полу- и промышленных плантаций тех или иных видов декоративных, лекарственных и других полезных растений. Только благодаря полученным знаниям об особенностях биологии изученных видов можно рассчитывать на успех их выращивания и сохранения в природе.

Благодарности

Работа выполнялась при финансовой поддержке грантом МОПО РФ «Экологический мониторинг Заповедного парка СибБС ТГУ» (1998–2000).

Литература

- Амельченко В.П. Анализ состояния репатриантов в Заповедном парке СибБС при ТГУ // Чтения памяти Ю.А. Львова: Сб. матер. II межрегиональной экологической конференции. Томск, 1998. С. 53–54.
- Амельченко В.П. Биосистематика полыней Сибири. Кемерово: КРЭОО «Ирбис», 2006. 238 с.

- Амельченко В.П., Малахова Л.А. Научно-методические вопросы охраны редких и исчезающих растений Томской области // Проблемы региональной экологии. Томск, 1994. Т. 2. С. 105–107.
- Белоусова Л.С. Денисова Л.В. Редкие растения мира. М., 1983. 340 с.
- Беляева Т.Н. Интродукция многолетних цветочно-декоративных растений из различных флористических областей Земного шара в лесной зоне Западной Сибири // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия: Сб. статей Междунар. конф. Ростов-на-Дону, 2002. С. 10–12.
- Беляева Т.Н., Прокопьев А.С. Морфобиологические исследования родовых комплексов как научная основа их успешной интродукции на юге Томской области // Проблема изучения растительного покрова Сибири: Сб. статей III Междунар. конф. Томск, 2005. С. 160–161.
- Беляева Т.Н., Прокопьев А.С. Интродукция декоративных травянистых многолетников в лесной зоне Западной Сибири // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира азиатской России: настоящее и будущее: Сб. статей Всерос. конф. Новосибирск, 2006. С. 45–46.
- Малахова Л.А. Кариологический анализ интродуцентов, прошедших длительный этап существования в условиях культуры // Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации: Тез. докл. междунар. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения акад. Н.В. Цицина. М., 1998. С. 134–136.
- Малахова Л.А., Зайкова Е.В. Кариологический анализ флоры Заповедного парка СибБС ТГУ // Проблемы изучения растительного покрова Сибири. II Российская науч. конф., посвящ. 150-летию со дня рождения П.Н. Крылова. Томск, 2000. С. 82.
- Морякина В.А. Эколого-географический анализ деревьев и кустарников // Бюл. Сибирского ботанического сада. Вып. 8. Томск, 1971. С. 3–20.
- Морякина В.А. Направления интродукционной работы в Сибирском ботаническом саду // Растительные богатства Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск, 1976. С. 19–25.
- Морякина В.А. Декоративное садоводство восточной Австралии // По матер. XX Междунар. конгр. по садоводству: Бюл. Сибирского ботанического сада. Томск, 1980. Вып. 12. С. 103–108.
- Морякина В.А., Свиридова Т.П. Изучение интродуцентов в родовых комплексах как один из способов обогащения культурной флоры // Природокомплекс Томской области. Томск, 1995. С. 32–37.
- Морякина В.А., Степанюк Г.Я. Сохранение биоразнообразия тропических растений при интродукции // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия: Сб. статей Междунар. конф. Ростов-на-Дону, 2002. С. 39–41.
- Русанов Ф.Н. Новые методы интродукции растений // Бюл. Гл. ботанического сада. 1950. № 7. С. 27–36.
- Свиридова Т.П. Изучение коллекций внутривидового разнообразия интродуцентов как основа для выявления и отбора, продуктивных для культивирования растений // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции: Сб. статей Междунар. науч. конф. Томск, 1997. С. 126–128.
- Свиридова Т.П. Значение метода родовых комплексов для интродукции лекарственных растений // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: Сб. статей Третьей Междунар. науч. конф. Санкт-Петербург, 2003. С. 137–138.
- Свиридова Т.П., Зибарева Л.Н. К вопросу фенотипической и химической изменчивости лекарственных растений при интродукции // Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации: Сб. статей Междунар. конф. М., 1998. С. 177–178.
- Свиридова Т.П., Зиннер Н.С. Редкие виды сибирской флоры для лекарственного растениеводства // Интродукция нетрадиционных и редких растений: Сб. статей VII Междунар. науч.-метод. конф. Мичуринск, 2008. С. 120–123.
- Свиридова Т.П., Кузнецова Н.П. Некоторые итоги коллекционного изучения лекарственных растений в условиях лесной зоны Западной Сибири // Особенности акклиматизации многолетних интродуцентов, накапливающих биологически активные вещества: Сб. статей Междунар. науч. конф. Краснодар, 1995. С. 205–208.
- Свиридова Т.П., Ревина Т.А., Яковлева И.А. Биологические и химические особенности видов рода *Rhaponticum* Lundw., выращиваемых на юге Томской области // Раст. ресурсы. 1993. Т. 29. Вып. 3. С. 50–57.
- Степанюк Г.Я. Интродукция и размножение редких тропических растений в СибБС ТГУ // Ботанические сады как центры сохранения разнообразия и рационального использования растительных ресурсов. М., 2005. С. 479–480.

**PRESERVATION OF BIODIVERSITY OF THE WORLD FLORA
IN SIBERIAN BOTANICAL GARDEN OF TOMSK STATE UNIVERSITY**

**V.A. Moryakina, T.P. Sviridova, T.N. Belyaeva, G.Ja. Stepanyuk,
V.P. Amel'chenko, N.S. Zinner**

Siberian Botanical Garden of Tomsk State University, Tomsk, Russia, e-mail: sbg125@yandex.ru

Summary

The article provides the information about the part of Siberian botanical garden TSU played in preservation of biodiversity of plants of the world flora and the Siberian flora, in particular, in the introduction and selection of plants for preservation, enrichment of the gene pools of valuable, rare and endangered plant species. The information is provided about the basic regions from which the plant material has been gathered, to involve it in «Siberian tropics and subtropics» and the open ground decorative plants and herbs. The method of microclonal duplication has been shown to be very effective for valuable rare tropical orchids. Significance of preservation of the world gene pools of plants, and studying the plants in created collections of intraspecific variability and patrimonial complexes is substantiated. Reserved Park of Siberian botanical garden is taken as a model to show the role of introduction and reintroduction trials with involvement of cytogenetic methods for preservation of biodiversity of particular plants and rare species.

СОХРАНЕНИЕ РЕДКИХ И ПОЛЕЗНЫХ РАСТЕНИЙ В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* ЦЕНТРАЛЬНОГО СИБИРСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА

Т.И. Новикова, А.Ю. Набиева, Т.В. Полубоярова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия,
e-mail: bluebird@list.ru

В последние годы для сохранения биоразнообразия растений успешно используются методы культуры *in vitro*. В Центральном сибирском ботаническом саду в лаборатории биотехнологии создана коллекция редких и полезных растений флоры Сибири и Дальнего Востока, сохраняемых в виде меристемных культур. Длительное сохранение *in vitro* не только способствует депонированию ценных генотипов, но и является основой для изучения процессов морфогенеза и регенерации в культуре ткани и исследований процессов адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*.

Ключевые слова: редкие растения, коллекции *in vitro*, сохранение, микроклонирование.

Сохранение биоразнообразия растений является одной из актуальнейших задач ботанических садов. Основой этой деятельности является ряд программных документов различного уровня, принятых в последние годы: «Конвенция о биологическом разнообразии» (1995, 2006), «Глобальная стратегия сохранения растений» (Global strategy ..., 2002), «Международная программа ботанических садов по охране растений» (2000) и «Стратегия ботанических садов России по сохранению биоразнообразия растений» (2003).

Хотя сохранение экосистем в целом в естественных местообитаниях (*in situ*) является эффективным методом поддержания генетического разнообразия, существенным его дополнением являются технологии сохранения растений *ex situ* (Benford, 1998; Schuiteman, Vogel, 2003). Важность сохранения биоразнообразия методами *ex situ* подтверждается в Статье 9 «Конвенции о биологическом разнообразии» (1995) и Задачей 8 Глобальной стратегии сохранения растений (Global strategy ..., 2002).

Ранее основными технологиями сохранения редких и исчезающих видов *ex situ* являлись хранение зародышевой плазмы (germplasm) в банке семян и выращивание в живых коллекциях в ботанических садах в условиях интро-

дукции. Однако, как известно, многие из редких видов имеют семена с низкой всхожестью или невыполненные семена и не могут храниться в условиях банка семян (Мехтизаде и др., 2007). Выращивание в экспозициях ботанических садов сопряжено с такими серьезными проблемами, как поражение растений насекомыми и болезнями, естественными выппадами из-за низкой генетической пластичности видов, связанными с увеличением вероятности аутокроссинга, приводящего к гомозиготности и в некоторых случаях – к понижению или полной потере фертильности. Некоторые редкие виды неспособны к выживанию в условиях интродукции (Андреев, Горбунов, 2000; Семенова, 2007). Кроме того, возможности обмена генофондом при выращивании растений в открытом грунте ограничены из-за риска передачи болезней.

В последние десятилетия при решении проблемы сохранения генофонда растений успешно используются методы биотехнологии растений, включающие микроклональное размножение и другие методы *in vitro*, в основе которых лежит уникальная тотипотентность растительной клетки, т. е. способность растения к вегетативной регенерации из соматических клеток. Использование методов размножения *in vitro* представляет собой важную дополни-

тельную возможность для сохранения этих проблемных видов в ботанических садах (Fay, 1992; Pence, 1999). Так как при микроразмножении используются асептические условия, проблемы международного обмена растительным материалом значительно сокращены, и большинство стран принимают растения *in vitro* с фитосанитарными сертификатами без обычно требуемого для культур *ex vitro* длительного периода карантина.

Использование методов культуры ткани является оптимальным решением задачи как для размножения видов с затрудненным размножением *in situ* и *ex situ*, так и при массовом производстве ценных генотипов растений из коллекций ботанических садов. Микрклональное размножение имеет значительные преимущества перед традиционными методами размножения растений, состоящие в возможности размножения растений с затрудненным семенным или вегетативным размножением, или представленных в единичных экземплярах; в высоком коэффициенте размножения (до 10^5 – 10^6 экземпляров в год от одного растения); в возможности культивирования растений круглый год и планировании выпуска растений к определенному сроку; незначительных затратах площадей для стерильного выращивания растений; освобождении растительного материала от вирусных, бактериальных, грибных болезней; и, наконец, в возможности длительного хранения пробирочных растений при пониженных температурах, что позволяет создать банк генотипов ценных видов и форм (Бутенко, 1999).

Регенерация растений может быть осуществлена несколькими путями:

– через активацию уже существующих в растении меристем (апекс стебля, пазушные и спящие почки стебля);

– через индукцию возникновения почек или эмбрионов *de novo*, которая включает:

а) образование адвентивных побегов непосредственно тканями экспланта;

б) индукцию прямого или непрямого соматического эмбриогенеза;

в) дифференциацию адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани (Катаева, Бутенко, 1983).

В представленной работе приведены данные по сохранению некоторых редких и полезных

растений азиатской части России в коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии ЦСБС.

Объекты исследований для создания коллекции микрклонов редких и эндемичных видов выбраны в соответствии со следующими критериями:

1. Принадлежность видов к одной из категорий редкости, принятых в Красных книгах;

2. Практическая ценность видов (декоративность, лекарственная ценность, значимость для селекции и др.);

3. Затруднения в размножении традиционными методами.

На основе указанных критериев из 6 семейств выбраны 16 видов, различающихся по статусу редкости (эндемичные, редкие) и обладающих полезными свойствами: сем. Ranunculaceae: *Pulsatilla vulgaris* Mill.; сем. Fabaceae: *Guldenstaedtia monophylla* Fisch., *Hedysarum theinum* Krasnob., сем. Liliaceae: *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Miscz., *L. pumilum* Delile, *L. distichum* Nakai, *L. cernuum* Kom.; сем. Alliaceae: *Allium karataviense* Regel, *A. aflatunense* B. Fedtsch., *A. altissimum* Regel, *A. giganteum* Regel, *A. schubertii* Zucc.; сем. Primulaceae: *Primula pinnata* M. Pop. et Fed.; сем. Scrophulariaceae: *Scrophularia altaica* Murr., *S. nodosa* L. и др.

Введение в культуру и размножение микрклонов редких и эндемичных видов

При введении в культуру и микрклональном размножении редких видов в качестве исходного материала предпочтительно использовать семена из возможно большего количества природных популяций, поскольку таким образом обеспечивается генетическое разнообразие видов (Benson *et al.*, 2000). Следует учесть, что используемые методы культуры ткани, состав питательных сред, условия культивирования не должны приводить к появлению соматических вариаций (Кунах, 1997). При создании банка *in vitro* редких и эндемичных видов ставили следующие задачи исследования:

– изучить морфогенетический потенциал и особенности регенерации видов;

– определить идентичность полученных клонов и материнских растений с помощью методов изоферментного анализа и сопоставления их кариотипов.

Из семейства Fabaceae в коллекции *in vitro* поддерживаются 2 вида. В 2007 г. впервые введена в культуру *in vitro* и размножена гюльденштедтия однолистная – *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch (сем. Fabaceae), редкий вид с дизъюнктивным ареалом в пределах Алтае-Саянской горной системы, рекомендованный для государственной охраны, статус 3(R). В региональные сводки (Красная книга Республики Алтай, 1996 и Красная книга Республики Тыва, 2002) вид внесен со статусом 2 (U) – уязвимый таксон.

В качестве исходного материала использовали семена, собранные в 2 популяциях (Онгудайский район, Алтайский край) сотрудниками лаборатории интродукции редких и исчезающих видов. Для введения в культуру *in vitro* в первом пассаже использовали среду Murashige, Skoog (1962) – (MS), содержащую 0,1 мг/л α -нафтилуксусную кислоту (НУК) и 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП). Среда MS для дифференциации во втором пассаже дополнили 0,4 мг/л НУК и 1,0 мг/л БАП. Совместное использование ауксинов и цитокининов способствовало вытягиванию конуса нарастания, что позволило в дальнейшем проводить микрочеренкование регенерантов. Повышение концентрации цитокинина привело к появлению множества пазушных побегов (рис. 1). Таким образом, микроразмножение происходит путем активации пазушных меристем, что является предпочтительным для размножения редких видов, поскольку позволяет поддерживать генетическую стабильность размножаемых растений (Высоцкий, 1998).



Рис. 1. Микроклональное размножение *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch. на среде MS, содержащей 0,1 мг/л НУК и 0,2 мг/л БАП.

Этим же способом – активацией пазушных меристем в культуру *in vitro* введен эндемик Алтая *Hedysarum theinum* Krasnob., ценное лекарственное бобовое растение, находящееся под угрозой исчезновения. Его небольшой дизъюнктивный географический ареал ограничен высокогорными альпийскими лугами в горном Алтае. Это растение всегда ценилось местным населением за его красные корни (народное название растения – «красный корень»), которые использовались для приготовления тонизирующего чая. В последние годы ценные лекарственные качества копеечника чайного заинтересовали несколько российских фармацевтических фирм, специализирующихся на натуральных продуктах. Чрезвычайно медленный рост делает этот вид особенно уязвимым. Корни считаются зрелыми и пригодными к заготовке в 30 лет. Копеечник чайный не размножается вегетативно и начинает цвести к 18 годам. Все это приводит к тому, что возобновление популяций нарушено в результате все возрастающей нагрузки со стороны заготовителей. Без эффективных действий, направленных на сохранение вида, его ресурсы могут полностью истощиться.

Одним из путей сокращения нагрузки на дикорастущие популяции является введение копеечника чайного в культуру для плантационного выращивания, что позволит обеспечить сырьем фармацевтические компании.

К сожалению, семена копеечника, собранные в природе, не пригодны для плантационных посевов. *Hedysarum theinum* дает много семян, которые хорошо прорастают, но большинство сеянцев погибает через несколько дней, в среднем выживает только 2 % (Карнаухова и др., 2006).

В этой ситуации микроклональное размножение является единственным и наилучшим решением проблемы сохранения *ex situ* этого экономически важного, находящегося под угрозой исчезновения лекарственного растения, что в дальнейшем позволит решить задачу сохранения копеечника чайного *in situ*.

В качестве эксплантов использовали растущие побеги с маточных растений, являющихся отборными формами, представляющими разные популяции из коллекции лаборатории интродукции редких и исчезающих видов. Для введения в

культуру *in vitro* в первом пассаже использовали среду MS, содержащую 0,1 мг/л НУК и 2,0 мг/л БАП. Среду MS для дифференциации во втором пассаже дополняли 1,0 мг/л БАП или использовали комбинацию двух цитокининов: 1,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л триапентенола (последний вводили для укорочения междоузлий).

Проведены исследования по оптимизации протокола для микроразмножения редкого вида *Primula pinnata* M. Pop. et Fed. (сем. Primulaceae), узлолокального эндемика с Маломорского побережья оз. Байкал, занесенного в Красную книгу Иркутской области (2001). Наилучший результат получили при размножении *P. pinnata* при комбинации регуляторов роста: 0,1 мг/л НУК и 2,0 мг/л БАП.

Из семейства Alliaceae введены в культуру ткани и размножены 5 эндемичных высокодекоративных видов из подрода *Melanocrommyum*: *Allium aflatanense* B. Fedtsch., *A. altissimum* Regel, *A. giganteum* Regel, *A. karataviense* Regel, *A. schubertii* Zucc., являющихся эндемиками Средней Азии (Флора ..., 1935).

В работе использовали различные типы эксплантов: семена, части почки возобновления с кусочком донца луковицы, цветоложе цветков и основание соцветий на разных стадиях развития (в фазе бутонизации и цветения). Показано, что использование генеративных органов в качестве эксплантов позволяет преодолеть проблемы за-грязнения, возникающие при использовании в качестве эксплантов подземных органов, а также сохранить материнское растение. В качестве индукционной среды применяли среду D. Dunstan, K. Short (1978), (BDS), содержащую 2 мг/л БАП и 2 мг/л НУК. Через 30–40 дней культивирования *A. karataviense* на среде для дифференциации, содержащей 1–2 мг/л триапентенола, появились первые глобулярные структуры и луковички. Удлинение побега происходило в конце следующего пассажа через 15–20 дней на среде BDS без гормонов. Укоренение побегов наблюдали на среде BDS с добавлением 1 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК). Использование метода прямой регенерации из цветоложа более эффективно, чем регенерация через каллусные культуры, формирующиеся из семян или луковиц. Коэффициент размножения при использовании этих эксплантов составил 28 побегов на один

эксплант (для *A. altissimum*), что значительно превышает коэффициенты размножения при использовании в качестве эксплантов семян или частей луковиц (рис. 2).

Разработана методика микрклонального размножения, культивирования и сохранения *in vitro* регенерантов двух редких видов лилий Дальнего Востока – *Lilium cernuum* Kom. и *L. distichum* Nakai (сем. Liliaceae). Семенное возобновление этих видов в интродукции часто отсутствует (Редкие и исчезающие виды ..., 1983; Растения Красной книги ..., 2005), а при вегетативном коэффициент размножения невысок. При изучении процесса адвентивного побегообразования у изучаемых видов в культуре *in vitro* выделен тип эксплантов, представляющий собой сопряженную систему: пыльник–тычиночная нить–ткань цветоложа, из которого получены регенеранты путем прямого органогенеза без стадии каллусообразования (рис. 3).

Проведенный с помощью кариологического метода анализ регенерантов показал их генетическую стабильность ($2n = 24$). Для изучения возможной изменчивости среди регенерантов, полученных в результате культивирования *in vitro* из разных типов эксплантов (луковичных чешуй, тканей и органов цветка), а также для сравнения исходных генотипов лилий с полученными регенерантами был применен анализ изоферментов. Мы использовали метод электрофоретического разделения экстрактов белков в крахмальном геле.



Рис. 2. Дифференциация луковичек и микроразмножение *Allium karataviense* Regel на среде BDS, дополненной 1 мг/л триапентенола.



Рис. 3. Пролиферация микролуковичек *Lilium distichum* Nakai, полученных из экспланта пыльник–тычиночная нить–ткань цветоложа.

По результатам анализа с участием 6 изоферментных систем были выделены в качестве видоспецифичных только две – изоцитратдегидрогеназы (IDH) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-FGD). С помощью этих ферментных систем нами показана возможность идентификации полученных регенерантов у двух изученных видов лилий. При анализе спектров IDH, полученных от растений *L. cernuum*, выращиваемых *in vivo*, находящихся в репродуктивном возрастном периоде, и у регенерантов, полученных из различных эксплантов тканей и органов их цветков, нами были отмечены различия (рис. 4, а). В то время как у регенерантов *L. cernuum*, полученных из разных типов эксплантов (луковичных чешуй и тканей и органов цветков), выявлена идентичность спектров IDH (рис. 4, б).

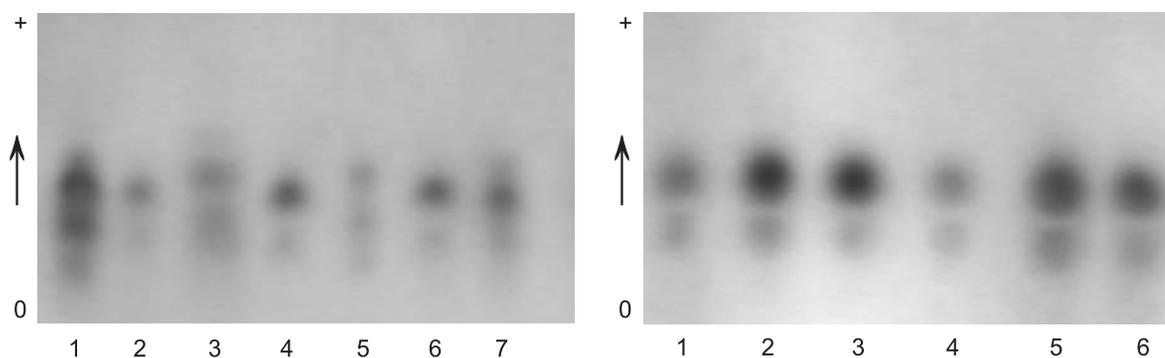


Рис. 4. Изоферментные спектры IDH: а) у растения-донора *L. cernuum*, выращиваемого в условиях *in vivo* (1, 3, 5) и у регенерантов, полученных из луковичных чешуй данного растения и выращенных *in vitro* (2, 4, 6); б) у регенерантов, полученных из частей цветков *L. cernuum* (1, 2, 3) и луковичных чешуй (4, 5, 6).

В дальнейшем планируется использование молекулярно-генетических методов (RAPD анализ) для идентификации исходных генотипов и регенерантов.

Введение в стерильную культуру и микрклональное размножение полезных видов растений (декоративных, лекарственных, пищевых и др.)

При введении в стерильную культуру и микрклональном размножении полезных видов растений (декоративных, лекарственных, пищевых и др.) для последующей интродукции и ускорения селекции выбор объектов определялся следующими критериями:

- 1) высокой хозяйственной ценностью видов, сортов, гибридов (декоративными свойствами, пищевыми качествами, лекарственной активностью и др.);
- 2) необходимостью массового размножения растений для ускорения интродукции и селекции;
- 3) затруднением использования традиционных методов для размножения.

В соответствии с критериями из 11 семейств выбраны следующие объекты исследования: рододендроны (25 морозоустойчивых видов, гибридов, сортов отечественной и зарубежной селекции), клематисы (12 сортов, 1 вид), голубика топяная (сорт селекции ЦСБС), малина (6 сортов), земляника (6 сортов), крыжовник (безшипая форма), лилии (45 видов, сортов, гибридов), гиацинты (3 сорта), сенполии (35 сортов), стрептокарпусы (9 сортов), бегонии

(2 сорта), каланхое (6 сортов), петунии, сурфинии, фортунии (10 сортов), хосты (7 сортов), лилейники (5 сортов), хирит (7 сортов) и др. – всего 185 видов, гибридов, сортов, форм.

При введении в культуру и размножении полезных растений ставили следующие задачи исследования:

- оценить влияние типов первичных эксплантов, состава питательных сред, условий культивирования на процессы регенерации *in vitro* изучаемых видов и сортов;

- разработать методы массового микроразмножения наиболее ценных видов, сортов и форм;

- оптимизировать процесс адаптации регенерантов *ex vitro*.

Для введения в культуру ткани ценного пищевого растения – голубики топяной *Vaccinium uliginosum* L. (сорта селекции ЦСБС), сем. Ericaceae, выращиваемой на коллекционном участке лаборатории пищевых растений, в качестве эксплантов брали отрастающие побеги длиной 3–6 см с активно растущими апексами. Применяемые методики (временный перевод в жидкую среду, выращивание при пониженных температурах, оптимизация среды за счет увеличения содержания отдельных макросолей и фитогормонов) способствовали размножению голубики в культуре ткани.

Из этого же семейства введены и размножены в культуре *in vitro* 25 видов, гибридов, сортов морозоустойчивых рододендронов. Основной средой для культивирования этих высокодекоративных растений является среда Anderson (1984) – (A-2), дополненная ИУК (β -индолилуксусная кислота) и 2 iP (6- γ , γ -диметилаллиламинопурин) в соотношении 1 : 5 (рис. 5, а). Проведена адаптация клонов к условиям *ex vitro*, часть полученных растений высажена в Бонсай-парк ЦСБС (рис. 5, б).

Из сем. Betulaceae введены в культуру ткани и размножены декоративные формы ольхи: *Alnus incana* f. *laciniata* и гибрид *A. hirsuta* \times *A. incana*, полученный путем искусственной гибридизации в лаборатории дендрологии. Особенность микроклонального размножения изучаемых форм заключается в исключении из состава сред ауксинов, вызывающих образование каллуса. Внесение в среду культивирования (MS) 0,5 мг/л БАП способствовало образованию

кластеров, состоящих из 15–20 пазушных и адвентивных побегов без признаков витрификации. Полученные клоны успешно адаптированы к условиям *ex vitro* (рис. 6).

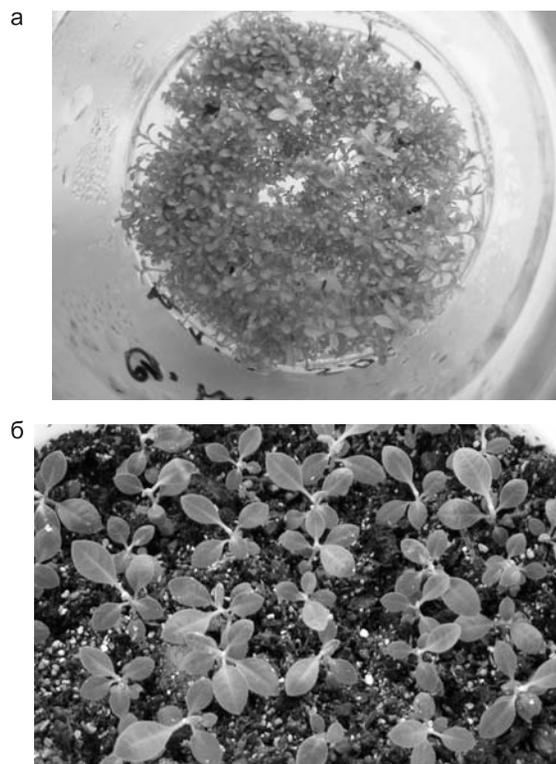


Рис. 5. Микроразмножение рододендронов: а) массовое размножение азалии сорта Golden light; б) адаптация микроклонов гибрида Helsinki University \times Ken Janeck к условиям *ex vitro*.



Рис. 6. Адаптация микроклонов гибрида *A. hirsuta* \times *A. incana* к условиям *ex vitro*.

Установлено, что морфогенетическое развитие эксплантов лилий, гиацинтов, лилейников и хост в культуре *in vitro* зависит от стадии онтогенеза гаметофита. Всего было изучено 3 сорта гиацинтов, 5 сортов лилейников, 7 сортов хост, 4 вида и 25 сортов лилий. Прямой органо-генез происходил только у эксплантов, взятых из бутонов на ранних стадиях гаметофитной генерации. Экспланты, взятые из бутонов на стадии полуроспуска (двухклеточная стадия пыльцевого зерна), в большинстве случаев развивались по пути флорального морфогенеза либо каллусогенеза (рис. 7, 8). Получены регенеранты у всех изученных нами генотипов лилий, лилейников, хост, гиацинтов. В течение трех лет поддерживается коллекция регенерантов, высаженных в почвенную культуру, среди которых отмечена высокая морфологическая степень сходства с исходными генотипами.

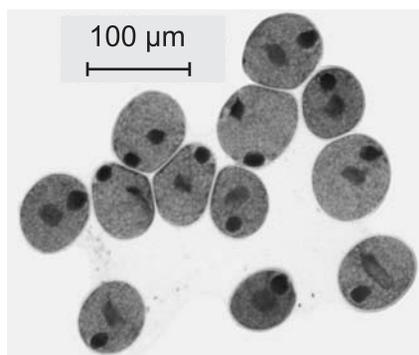


Рис. 7. Двухклеточная стадия развития пыльцевого зерна лилии.

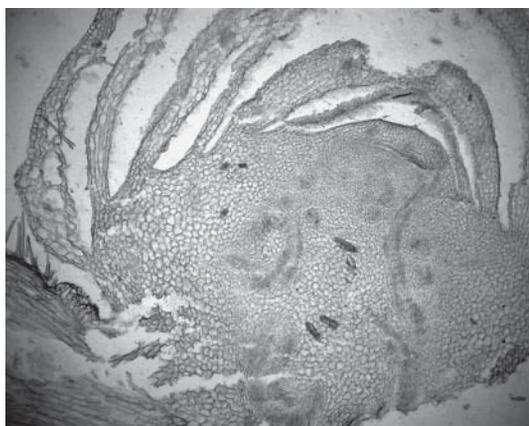


Рис. 8. Адвентивная цветочная почка хосты сорта Christmas Tree, сформировавшаяся *in vitro*.

Сохранение в коллекции *in vitro*

Возможность создания банка культур *in vitro* для длительного хранения генофонда редких и полезных растений является важнейшим достижением биотехнологии. Методические приемы, существующие на сегодняшний день, делятся на две группы. Одна из этих групп основывается на хранении культур без нарушения процесса роста, тогда как вторая – на хранении либо при замедлении роста, либо при полной его остановке. Первый подход является достаточно затратным, так как связан с частым субкультивированием растительного материала. Способ криоконсервации, требующий тщательной подготовки материала, добавления криоконсервантов, является еще более трудоемким и дорогим, и пока мы не имеем специального оборудования. Наиболее приемлемым в наших условиях является метод снижения температуры культивирования, за счет которого достигается увеличение промежутка между пассажами до 12–14 месяцев. Важно отметить, что способ хранения живых тканей при пониженных температурах не имеет негативных последствий для растений-регенерантов и даже способствует их более интенсивному росту после переноса в нормальные условия.

В настоящее время в коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии ЦСБС поддерживается 16 микроклонов редких и эндемичных видов из 6 семейств и 185 микроклонов полезных видов, сортов, гибридов, форм из 11 семейств. Для хранения нами используется специальное оборудование – световой термостат фирмы RuMed (Германия), позволяющий сохранять клоны при пониженной температуре в состоянии замедленного роста. Создание банка *in vitro* не только способствует развитию исследований по сохранению биоразнообразия растений, но и является основой для изучения фундаментальных проблем физиологии, биохимии растений, генетико-селекционных работ и др.

Литература

Андреев Л.Н., Горбунов Ю.Н. Сохранение редких и исчезающих растений *in situ*: достижения и проблемы // Изучение и охрана разнообразия фауны, флоры и основных экосистем Евразии: Матер.

- Международ. конф. М., 2000. С. 19–23.
- Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
- Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: Автореф. дис... д-ра с.-х. наук. М., 1998. 44 с.
- Карнаухова Н.А., Селютина И.Ю., Черкасова Е.С. Особенности развития *Hedysarum theinum* Krasnob. при интродукции в лесостепную зону Западной Сибири // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира Азиатской России: настоящее и будущее: Матер. Всерос. конф. Новосибирск, 2006. С. 129–131.
- Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
- Конвенция о биологическом разнообразии: Текст и прил. NEP/CBD/COP/8/12, 2006. 38 с.
- Красная книга Иркутской области. Сосудистые растения. Иркутск: Изд-во Облмашинформ, 2001. 200 с.
- Красная книга Республики Алтай. Растения. Новосибирск, 1996. 130 с.
- Красная книга Республики Тыва. Растения. Новосибирск, 2002. 149 с.
- Кунах В.А. Генетическая изменчивость соматических клеток растений. 3. Каллусообразование *in vitro* // Биополимеры и клетка. 1997. № 5. Вып. 13. С. 362.
- Международная программа ботанических садов по охране растений. М.: Междунар. совет ботан. садов по охране растений. Botanic Gardens Conserv. Intern. 2000. 57 с.
- Мехтизаде Э.Р., Акпаров З.И., Мамедова С.А. Прогноз генетической долговечности семян // Современные проблемы науки и образования. 2007. № 3. www.rae.ru.
- Растения Красной книги России в коллекциях ботанических садов и дендрариев. М., 2005. 142 с.
- Редкие и исчезающие виды природной флоры СССР, культивируемые в ботанических садах и других интродукционных центрах страны. М., 1983. 302 с.
- Семенова Г.П. Редкие и исчезающие виды флоры Сибири. Новосибирск: Академ. изд-во «Гео», 2007. 408 с.
- Стратегия ботанических садов России по сохранению биологического разнообразия растений. М.: Красная Звезда, 2003. 32 с.
- Флора СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1935. Т. 4.
- Anderson W.C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1984. 109. P. 343–347.
- Benford G. An *ex situ* «Library of Life» strategy // Protection of global biodiversity converting strategies / Eds L.D. Guruswamy, J.A. McNeely. Durham, London Duke Univ. Press. 1998. P. 87–97.
- Benson E.E., Danaher J.E., Pimbley I.M. *et al.* *In vitro* micropropagation of *Primula scotica*: a rare Scottish plant // Biodiversity and Conservation. 2000. V. 9. P. 711–726.
- Dunstan D.I., Short K.C. Shoot production from onion callus tissue culture // Sci. Hortic. 1978. V. 9. P. 99–110.
- Fay M. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods // *In vitro* Plant Cell Dev. Biol. 1992. V. 28. P. 1–4.
- Global Strategy Plant Conservation: www.bgci.org.uk/files/7/0/global_strategy.pdf.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // J. Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.
- Pence V.C. The application of biotechnology for the conservation of endangered plants // Plant Conservation Biotechnology / Ed. E.E. Benson. Chapter 15. London: Taylor and Francis, 1999. P. 227–241.
- Schuiteman A., de Vogel E.F. Taxonomy for conservation // Orchid conservation / Eds K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barret, P.J. Cribb. Kota Kinabalu, Sabah: Natural Publ., 2003. P. 55–68.

**RARE AND USEFUL PLANTS' CONSERVATION IN THE *IN VITRO* COLLECTION
OF CENTRAL SIBERIAN BOTANICAL GARDEN****T.I. Novikova, A.Yu. Nabieva, T.V. Poluboyarova**

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: bluebird@list.ru

Summary

In vitro techniques have found increasing use in protection of plant biodiversity in recent years. In Central Siberian Botanical Garden the collection of meristem cultures of threatened and useful plants from Siberia and the Far East floras was maintained in the Laboratory of Biotechnology. Long-term storage of material in culture allows not only conservation of rare genotypes but also could serve the basis for morphological and regeneration studies including adaptation of microclones under *ex vitro* conditions.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГНУ НИИ САДОВОДСТВА СИБИРИ ИМЕНИ М.А. ЛИСАВЕНКО И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ

З.В. Долганова, И.П. Калинина, О.В. Мочалова, И.А. Пучкин, В.И. Усенко

ГНУ НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко, Барнаул, Россия,
e-mail: niilisavenko@hotmail.ru

Рассматриваются история и современное состояние генетических коллекций по плодовым, ягодным, декоративным растениям и винограду в ГНУ НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко. Выделены доноры и источники ценных признаков для использования в селекции, перспективные формы для расширения озеленительного ассортимента декоративных и красивоцветущих растений в Сибири.

Ключевые слова: генетические коллекции, селекция, плодовые, ягодные, виноград, декоративные культуры.

Проблема сохранения, рационального использования и преумножения генофонда культурных и дикорастущих растений в настоящее время имеет огромное значение. Потеря биологического разнообразия видов, разновидностей, стародавних и новых сортов, доноров и источников полезных признаков рассматривается как часть глобального экологического кризиса. Необходима разработка методов сохранения, изучения, идентификации, регистрации и использования в селекции растительных генетических ресурсов.

Всестороннее и полное научное изучение генофонда культурных растений Сибири, в том числе плодовых, ягодных и декоративных культур, должно способствовать освоению и сохранению уникальных природных ресурсов для создания банка наиболее ценных и исчезающих видов, выделения лучших родительских форм для селекции.

ГНУ НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко (НИИСС) с 1933 г. проводит сбор генетических коллекций по 12 плодовым, ягодным культурам и винограду, 118 родам деревьев и кустарников и более чем 300 родам и видам травянистых многолетников с целью сохранения генетического разнообразия, отбора источников и доноров ценных признаков.

Основными задачами сбора, содержания и использования генетических коллекций в НИИСС являются: сохранение уникальных представителей сибирской и дальневосточной флоры, интродукция ценных видов и разновидностей с высокой степенью адаптации к суровым климатическим условиям Сибири для повышения биологического разнообразия; поддержание и использование признаков коллекций для подбора родительских пар в селекции на комплекс ценных признаков; разработка технологий воспроизводства ценных генотипов (в том числе методами биотехнологии); пропаганда идей охраны природы, экологического воспитания населения.

Существуют два аспекта использования собранного генофонда: 1) генетический, который предполагает сохранение генетического разнообразия видов, находящихся под угрозой исчезновения, занесенных в «Красную книгу РФ»; 2) селекционный (основной) предполагает формирование признаков коллекций для отбора и включения в селекцию источников и доноров ценных хозяйственных признаков (Еремин, 1994).

Деревья, кустарники и древесные лианы имеют существенные особенности, затрудняющие научные исследования по частной генетике

культур. В их числе: многолетний жизненный цикл, длительный ювенильный период; крупные габариты растений, требующие больших площадей для выращивания; высокая степень гетерозиготности генома; облигатный перекрестный тип опыления; полиплоидные ряды и склонность к апомиксису; преимущественно вегетативный способ размножения. Поэтому с самого начала существования НИИСС им. М.А. Лисавенко основное внимание ученых было уделено формированию признаков коллекций, основанных на местном, устойчивом к биотическим и абиотическим факторам генофонде.

Первыми организаторами коллекционных сборов были М.А. Лисавенко, З.И. Лучник, И.В. Верещагина, Н.Н. Тихонов, Н.И. Кравцева и др. (Лисавенко, 1950; Верещагина, 1960, 1996; Калинина, 2003; Долганова, 2005).

Сбор исходного материала был начат с 1933 г., т. е. с момента организации плодово-ягодного опорного пункта, преобразованного в дальнейшем в опытную станцию, а затем в Институт садоводства Сибири. Эта работа велась по следующим направлениям: экспедиционное обследование и сбор перспективных для селекции форм полезных дикорастущих растений; поиск и сбор наиболее адаптированных местных сортов и форм; интродукция инорайонных сортов-образцов; создание генофонда разнообразными методами селекции.

Первые экспедиции по сбору дикорастущих ягодных, декоративных и пищевых растений были проведены в Горном Алтае. Несколько позже были осуществлены экспедиции на Дальний Восток (Амурская область, Хабаровский и Приморский края), в Бурятию, Прибайкалье, Кемеровскую область, а также в Северный Казахстан и Монголию. В начале 1980-х гг. проводились выезды на Камчатку и в район строительства БАМ. Последняя экспедиция по Горному Алтаю состоялась в 1999 г.

В результате этих экспедиций был собран богатый исходный материал, среди которого были отобраны наиболее адаптированные к местным климатическим условиям образцы смородины черной и красной, малины, крыжовника, облепихи, жимолости, использованные в дальнейшем в качестве исходного материала в селекции. Первые в мире сорта облепихи, жимолости и калины были выделены среди этих

отборов. Среди дикорастущих декоративных растений впервые выделены и введены в культуру плакучая форма ивы Ледебура (курайская) и голубые формы ели (Лучник, 1970).

В садах алтайских садоводов был отобран ряд перспективных форм, лучшие из которых получили сортовые названия и вошли в районированный сортимент, например, сорт малины Вислуха.

Интродукция садовых растений была начата пионерами сибирского садоводства еще в XIX в. Целенаправленная работа по интродукции стала проводиться после организации в бывшем СССР сети НИУ по садоводству, осуществляющих обмен генетическим материалом, а его поступление из-за рубежа обеспечивал ВНИИР им. Н.И. Вавилова. Из европейской части страны в Сибирь было ввезено много сортов, однако большинство из них не получило распространения из-за слабой зимостойкости и лишь наиболее устойчивые из них использовались в селекции.

Большая часть коллекций НИИСС была создана селекционным путем. В нее вошли полученные в разные годы сорта, элитные и отборные формы, а также доноры и источники хозяйственно полезных признаков. В качестве материнских исходных форм чаще всего использовали наиболее адаптированные к местным условиям сибирские сорта и отборы из диких видов, опылителями обычно служили сорта европейской селекции – носители признаков высокого качества плодов. Почти весь исходный материал для селекции был создан методом отдаленной гибридизации, потому что только она позволяет значительно расширить разнообразие генетического материала и отобрать наиболее пластичные формы (Мочалова, Матюнин, 2002; Калинина, 2003; Пучкин, Калинина, 2006; Усенко и др., 2007).

В настоящее время в коллекциях НИИСС изучается более 5200 сортов-образцов плодовых и ягодных культур и винограда разного происхождения. Из них 72 сорта-образца представлены видами и разновидностями, которые относятся к 20 родам 5 семейств покрытосеменных растений (табл. 1).

Основными требованиями для включения сорта-образца в признаковую коллекцию являются: высокая степень зимостойкости

Таблица 1

Коллекционный и гибридный фонд
плодовых и ягодных культур, винограда
в ГНУ НИИСС им. М.А. Лисавенко
(на 01.01.08)

Культура	Всего сорто-образцов	Гибридный фонд
Яблоня	791	12475
Груша	183	2120
Слива	2124	25920
Вишня	66	8360
Жимолость	242	17754
Земляника	761	12658
Калина	24	1420
Малина	59	17830
Облепиха	500	48311
Смородина красная	50	–
Смородина черная	298	19475
Смородина золотистая	7	1814
Виноград	121	–

вегетативных органов и генеративных почек; устойчивость к выпреванию; устойчивость к основным болезням и вредителям; высокие биохимические показатели ценных соединений для использования в пищевых и лекарственных целях; оригинальный фенотип, высокая степень декоративности. В результате селекционной работы за все годы существования НИИСС создано более 370 сортов плодовых, ягодных культур и винограда (табл. 2).

Сибирские сорта груши были созданы путем межвидовой гибридизации *Pyrus ussuriensis* Maxim. и *P. communis* L. (Пучкин, 2000а). Из 310 сортообразцов груши, находящихся на сортоиспытании, выявлены и рекомендованы доноры и источники высокой зимостойкости дерева (Куюмская, 3/1); зимостойкости плодовых почек (0-70-680, 0-70-672, 13-59-10127, 13-59-10143, 0-60-14857); позднего цветения (Лель); крупноплодности и высокой потенциальной урожайности (Тема); засухоустойчивости (*P. salicifolia* Pall., *P. betulifolia* Bunge); нежной консистенции и высокой сочности плодов (Вусиан); длительной лежкости плодов

Таблица 2

Итоги селекционной работы НИИСС (1933–2007 гг.)

Культура	Создано сортов	Получено авторских свидетельств	Сортов в Госреестре на 01.01.08	Получено патентов
Груша	10	7	6	1
Вишня	15	13	9	–
Слива	28	22	14	–
Подвой сливы	1	1	1	–
Яблоня	70	40	34	12
Жимолость	31	21	21	18
Земляника	8	4	3	3
Калина	7	7	7	4
Крыжовник	24	7	4	–
Малина	32	14	11	–
Облепиха	44	26	19	13
Смородина черная	91	52	28	10
Смородина красная	4	2	2	–
Смородина золотистая	7	7	7	–
Виноград	1	1	1	–

(Пин-го-ли). Установлена склонность к относительно легкому укоренению зеленых черенков гибридов сибирских сортов груши с видами *P. salicifolia* и *P. betulifolia*.

Сорта сибирской яблони созданы путем межвидовой гибридизации *Malus pallasiana* Juz. и *M. domestica* L. (Калинина, 1976). Из изученного генофонда выявлены доноры и источники: высокой устойчивости к неблагоприятным факторам осенне-зимнего сезона (Ранетка пурпуровая, Лалетино, Алтайский голубок, Нежное забайкальское, Сеянец Кравченко, Аленушка, Горноалтайское); устойчивости цветков к заморозкам (Жебровское, Алтайское багряное); полевой устойчивости к парше (Горноалтайское, Ранетка пурпуровая, Таежное, Пепинка алтайская, Пепин шафранный, Уэлси). Доноры олигогенной устойчивости к парше иностранной селекции OR48T47, OR40T43, SR0523 включены в селекцию. Из полученных иммунных гибридов 25 лучших проходят конкурсное испытание (Ящемская, 1997; Калинина, 2003).

Работа по сливе начата М.А. Лисавенко в первые годы его работы на Алтае. Продолживший ее с 1937 г. Н.Н. Тихонов привез в г. Горно-Алтайск наиболее ценные сортообразцы, выделенные им в садах Дальнего Востока в насаждениях сливы уссурийской (*Prunus salicina* var. *Ussuriensis* (Koval. et Kost.) Erem.). Лучшие из них, Желтая Хопты и Маньчжурская красавица, а также завезенный из Северной Америки вишне-сливовый гибрид Опата составили основу первого сортимента сливы на Алтае.

Основную часть коллекции сливы составляют сорта и гибриды сливы китайской (подвид – уссурийская), американской (подвид – канадская), сливы домашней, терна, алычи, терносливы, микровишни песчаной, афлатунии и др.

На этой основе создано 27 сортов, большое количество отдаленных гибридов (Пучкин, 2000б). Среди коллекции сливы выделены сортообразцы – носители хозяйственно ценных признаков: устойчивости к выпреванию – афлатуния ильмолистная (*Louiseania ulmifolia* Rachom.), алыча (*Prunus cerasifera* Ehrh.), терн (*P. spinosa* L.), слива домашняя (*P. domestica* L.); позднего цветения – слива канадская, вишня песчаная, гибриды вишни песчаной со сливой американской; устойчивости плодовых почек к неблагоприятным условиям зимы – вишня же-

лезистая (*Cerasus glandulosa* (Thumb.) Loisel.), вишня песчаная, слива канадская (Пучкин и др., 2000).

Первый генофонд вишни на Алтае был сформирован на основе вишни степной (*Cerasus fruticosa* (Pall.) G. Woron.) с участием вишни обыкновенной (*C. vulgaris* Mill.). В селекцию на устойчивость к коккомикозу вовлечены *C. maackii* Rupr., *C. sachalinensis* (Fr. Schmidt), *C. maximowiczii* Rupr. (Комар.), передающие признак устойчивости к коккомикозу. От скрещивания алтайских сортов вишни с *C. maackii* создан и включен в Госреестр клоновый подвой АВЧ-2. В Госсортиспытании находится сорт Шадринская (Субботинская × церападус ВЧ-11-59-2). К настоящему времени получено уже F₄ от скрещивания с *C. maackii*, среди которых отобраны элитные формы (Субботин, 2002). В 2003–2007 гг. в НИИСС разработана технология микроклонального размножения сортов и гибридов вишни различного генетического происхождения (Плаксина, 2007).

Генофонд облепихи в НИИСС сформирован на основе одного вида – *Hippophae rhamnoides* L. (Пантелеева, 2006). Всего в НИИСС выведено 43 сорта облепихи. Они составляют основу российского сортимента этой культуры, а также выращиваются во многих зарубежных странах.

В последние годы созданы сорта: с очень поздним (Сентябринка) и очень ранним (Августина) сроками созревания; сладкоплодные – Алтаянка, Теньга, Эссель; высокомасличные (5–7 %) – Чечек, Дар Катуня, Золотой початок; высококаротиноидные (до 50 мг%) – Живко, Жемовая, Иня, Чечек, пригодные для механизированной уборки.

В результате изучения генофонда облепихи выделены доноры и источники: устойчивости и высокой зимостойкости генеративных почек мужских форм – Алей, Гном; устойчивости к облепиховой мухе – Сибирская, Янтарная, Улала; устойчивости к усыханию – Чулышманка, Солнечная, Алей, Новость Алтая.

Основой сортимента смородины на Алтае послужил сибирский подвид смородины черной (*R. nigrum* L.). В селекцию также были привлечены скандинавский и европейский подвиды смородины черной, смородина дикуша (*R. dikuscha* Fish.), смородина канадская (*R. canadensis* Jancz.).

Выделены доноры и источники хозяйственно ценных признаков: высокой морозостойкости – Голубка, Ильгумень 74-1, Ильгумень 74-4, Ильгумень 74-5-1, Коргон 74-3, Приморский чемпион; слабой реакции на оттепели – Голиаф и его потомки; устойчивости к грибным болезням – скандинавские сорта и сорт НИИСС Лама; крупноплодности – Зоя, Ксюша, Ядреная (Калинина, 2003; Забелина, 1997).

Созданы первые в мире гибриды смородины черной со смородиной американской, золотистой, а также с крыжовником. Они отличаются устойчивостью к болезням и вредителям, хорошими показателями биохимического состава и вкуса ягод (Санкин, Салыкова, 2003).

Уникальной исходной формой является созданный в НИИСС сорт Голубка, с участием которого в бывшем СССР и за рубежом создано 89 сортов.

В селекционный процесс жимолости были вовлечены *Lonicera turczaninowii* Pojark., *L. edulus* Turcz. ex Freyn, *L. pallasii* Ledeb. и местный вид *L. altaica* Pall. Растения сортов, происходящие от жимолости алтайской (Галочка, Салют, Селена и др.), быстро растут, устойчивы к осыпанию, но имеют плоды с горчинкой, позднего созревания. Скрещивание форм дальневосточного происхождения и жимолости алтайской позволило создать исходный материал с сочетанием положительных признаков разных видов, сорт Берель и ряд элитных форм (Гидзюк, 1978; Калинина, 2003).

Генофонд декоративных деревьев и кустарников состоит из 44 семейств, 118 родов, 622 видов, 659 культиваров (табл. 3) и представляет различные регионы: Дальний Восток, Европейская часть России, Западная Европа и Средиземноморье, Средняя Азия и Казахстан, Западная и Восточная Сибирь, Северная Америка, Япония, Корея, Китай (Лучник, 1970; Верещагина, 1996; Долганова, 2008).

Коллекция травянистых многолетников (астильбы, пионы, ирисы, флоксы, тюльпаны, лилейники, лилии, нарциссы, крокусы) состоит из 1319 сортов и видов. Малораспространенные многолетники представлены 362 видами и сортами разных сроков цветения.

Создан 41 сорт 6 декоративных культур (сирень, пион, ирис, примула, лилейник, лилия) и гибридный фонд более 16 тысяч сеянцев (табл. 4).

За период деятельности института создано два дендрария. Один в Горно-Алтайске, где испытано свыше 400 видов деревьев и кустарников. Другой в Барнауле, где проходило изучение 957 видов, сортов и форм. С 1965 г. интродукционная сеть расширена до 300 пунктов – опытные школьные дендрарии и мемориальные скверы были заложены посадочным материалом института.

Дендрарий – это музей под открытым небом. По нему с весны до поздней осени проводятся экскурсии для школьников, студентов, гостей края и города. Ежегодно дендрарий посещают более 50 тысяч человек. Коллекции древесных и травянистых растений внесены в список

Таблица 3

Коллекционный и гибридный фонд
деревьев и кустарников
ГНУ НИИСС им. М.А. Лисавенко (на 01.01.08)

Культура	Число образцов	Гибридный фонд
Розы	185	–
Сирень	118	1408
Чубушник	30	–
Виды деревьев, кустарников	617	–
Межвидовые гибриды	52	–

Таблица 4

Коллекционный и гибридный фонд
травянистых многолетников
ГНУ НИИСС им. М.А. Лисавенко (на 01.01.08)

Культура	Число сортов	Гибридный фонд
Крокусы	26	–
Тюльпаны	113	–
Нарциссы	131	–
Лилии	185	5046
Пионы	265	991
Лилейники	103	6359
Ирисы	436	3682
Флоксы	53	–
Астильба	45	–

ботанических садов России под названием «Дендрологический сад НИИСС им. М.А. Лисавенко». Дендрарий является членом Российской ассоциации ботанических садов (г. Москва), участником международной кооперации по обмену семян.

В местный озеленительный ассортимент древесных растений рекомендовано 60 видов флоры Алтая, 62 – флоры Дальнего Востока, 34 – Северной Америки, 27 – европейской территории России. Ежегодно предлагается в реализацию более 200 сортов и видов травянистых многолетников, обеспечивающих цветение с ранней весны до поздней осени. Ассортимент обновляется каждую пятилетку на 50–80 %.

Заложены маточники рекомендованных пород. Обменный семенной фонда ежегодно обновляется 100 и более образцами семян (все-го в делектусе находится более 200 образцов). Обмен семенами проводится ежегодно с 60–70 организациями страны.

В настоящее время теория и методология формирования коллекций исходного материала с учетом географии, биологии, экологии, генетики культурных растений и их диких сородичей требуют дальнейшего совершенствования. В связи с изменением климата, возникновением эпифитотийных ситуаций и локальных эдафических явлений необходим постоянный прогноз потребности в определенных генетических источниках и донорах. Это требует развития сотрудничества с мировыми генбанками, объединения усилий ученых разных специальностей. Больше внимания в будущем необходимо уделить созданию и изучению коллекций, основанных на частной генетике культур.

Литература

- Верещагина И.В. Грунтовое цветоводство на Алтае. Барнаул: Алт. кн. изд-во, 1960. 111 с.
- Верещагина И.В. Перезимовка декоративных многолетников в Алтайском крае. Новосибирск: НИИСС им. М.А. Лисавенко РАСХН. Сиб. отд-ние, 1996. 170 с.
- Гидзюк И.К. Синеплодная садовая жимолость. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1978. 162 с.
- Долганова З.В. Декоративное садоводство Алтайского края в лицах // Декоративное садоводство Сибири: Сб. науч. тр. Барнаул, 2005. С. 20–30.
- Долганова З.В. Декоративное садоводство на Алтае // Декоративное садоводство России: состояние, проблемы, перспективы. 24–27 июня 2008 г. Сочи, 2008. С. 31–43.
- Еремин Г.В. Генетические коллекции плодовых и ягодных растений. СПб, 1994. 36 с.
- Забелина Л.Н. Селекция черной смородины на преодоление экстремальных ситуаций // Состояние и проблемы садоводства России: Сб. науч. тр. Новосибирск: НИИСС им. М.А. Лисавенко РАСХН. Сиб. отд-ние, 1997. Ч. 1. С. 213–219.
- Калинина И.П. Селекция яблони на Алтае. Барнаул: Алт. кн. изд-во, 1976. 351 с.
- Калинина И.П. Итоги интродукции и селекции плодовых и ягодных культур на Алтае // Проблемы устойчивого развития садоводства Сибири: Матер. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию НИИСС им. М.А. Лисавенко. Барнаул, 18–23 августа 2003 г. Барнаул, 2003. С. 10–16.
- Лисавенко М.А. По мичуринскому пути. Барнаул: Алтайская правда, 1950. 349 с.
- Лучник З.И. Интродукция деревьев и кустарников в Алтайском крае. М.: Колос, 1970. 656 с.
- Мочалова О.В., Матюнин М.Н. Цитоэмбриология и селекция отдаленных гибридов и полиплоидов косточковых растений на Алтае. Новосибирск: ГУП ПРО СО РАСХН, 2002. 229 с.
- Пантелеева Е.И. Облепиха крушиновая (*Hippophae rhamnoides* L.). Барнаул: Сиб. отд-ние РАСХН, НИИСС, 2006. 249 с.
- Плаксина Т.В. Микроразмножение новых сортов вишни алтайской селекции // Сиб. вест. с.-х. науки. 2007. С. 40–44.
- Пучкин И.А. Воздействие повреждающих факторов среды на грушу в лесостепи Алтайского края и методика их определения // Задачи селекции и пути их решения в Сибири: Доклады и сообщения генетико-селекционной школы. Новосибирск, 2000а. С. 135–139.
- Пучкин И.А. Перспективы использования межродовых гибридов вишня песчаная × слива канадская // Проблемы стабилизации и развития сельского хозяйства Казахстана, Сибири и Монголии: Матер. третьей междунар. науч.-практ. конф. Алматы, 18–19 июля 2000 г. Новосибирск, 2000б. С. 83–84.
- Пучкин И.А., Калинина И.П. Селекция плодовых и ягодных культур в Сибири на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам // Селекция на устойчивость растений к биотическим и абиотическим факторам среды: Матер. науч.-метод. конф. Красноярск, 12–13 июля 2005 г. Новосибирск, 2006. С. 59–71.
- Пучкин И.А., Матюнин М.Н., Мочалова О.В. Использование генофонда родов *Prunus* и *Microcerasus* в селекционной работе на Алтае // Актуальные проблемы земледелия и селекции в

- Сибири: Матер. выездной сессии объединенных научных советов по общему земледелию, селекции и семеноводству. Новосибирск, 2000. С. 156–158.
- Санкин Л.С., Салыкова В.С. Создание и изучение нового исходного материала для селекции смородины черной // Проблемы устойчивого развития садоводства Сибири: Матер. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию НИИСС им. М.А. Лисавенко. Барнаул, 18–23 августа 2003 г. Барнаул, 2003. С. 131–137.
- Субботин Г.И. Вишня в Южной Сибири. Барнаул, 2002. 145 с.
- Усенко В.И., Пучкин И.А., Долгова Л.П. Селекция садовых культур в Сибири: ее особенности, итоги и задачи // Садоводство и виноградарство. 2007. № 4. С. 18–21.
- Ящемская З.С. Селекция яблони на устойчивость к парше в условиях низкогорий Алтая // Состояние и проблемы садоводства России: Сб. науч. тр. Новосибирск: НИИСС им. М.А. Лисавенко РАСХН. Сиб. отд-ние, 1997. Ч. 1. С. 25–30.

GENETIC COLLECTIONS OF M.A. LISAVENKO SIBERIAN RESEARCH INSTITUTE OF HORTICULTURE AND THEIR APPLICATION IN BREEDING

Z.V. Dolganova, I.P. Kalinina, O.V. Mochalova, I.A. Puchkin, V.I. Usenko

SRI M.A.Lisavenko Siberian Research Institute of Horticulture, Barnaul, Russia,
e-mail: niilisavenko@hotmail.ru

Summary

The history and modern state of genetic collections of fruit, berry, ornamental plants and grape in the M.A. Lisavenko Siberian Research Institute of Horticulture are presented in the paper. Donors and the sources of valuable characters for application in breeding as well as promising forms for expansion of decorative assortment of ornamental and beautifully blossoming plants in Siberia are selected.

СОЗДАНИЕ, СОХРАНЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА КОРМОВЫХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ИЦиГ СО РАН

А.В. Железнов, Н.Б. Железнова, Н.В. Бурмакина, Н.С. Леонова, Р.С. Юдина

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: zheleznov@bionet.nsc.ru

В работе излагаются методологические вопросы формирования, сохранения, изучения и использования генетических коллекций растений. В целях пополнения коллекций новыми формами использовались следующие генетические методы: экспериментальный мутагенез, инбридинг, внутривидовая и межвидовая гибридизация. Коллекции рассматриваются не только в плане сохранения генофондов, но и как объекты для решения теоретических и прикладных задач генетики и селекции растений.

Ключевые слова: генофонд, амарант, кормовые растения, мутагенез, корреляция, изоферменты, электрофорез, сорт, изменчивость.

Искать в природе и в растениеводстве исходный материал в разных странах и у разных народов, собирать его, открывать новые и новые ресурсы, новые признаки, свойства и закономерности, мастерски и творчески использовать их в селекции – великая прогрессивная и благодарная задача.

(Жуковский, 1956)

Решение задач, поставленных П.М. Жуковским, является основным направлением деятельности лаборатории генофондов и систем размножения растений ИЦиГ СО РАН. При этом мы исходим из двух диаметрально противоположных фактов. С одной стороны, районы Сибири и особенно Горного Алтая, Салаира и Кузнецкого Алатау продолжают оставаться богатейшим источником видового и популяционного разнообразия. С другой – бурное развитие промышленности, интенсивное ведение сельского хозяйства, распашка многих миллионов гектаров земли, которые в последнее время оказались заброшенными, привели к нарушению исторически сложившихся связей в природе, к истощению ее ресурсов.

Формирование коллекции

К настоящему времени в ИЦиГ СО РАН сформирована коллекция, насчитывающая

10 тыс. образцов, принадлежащих к 113 видам из 17 семейств. В коллекции имеются следующие виды кормовых и лекарственных растений:

Семейство Gramineae: *Agropyrum cristatum* (L.) Gaertn. (30)¹, *Agropyrum glaucum* R. et Sch. (5), *Agrostis alba* L. (14), *Avena sativa* L. (15), *Beckmannia eruceformis* (L.) Host. (20), *Bromopsis inermis* Leyss. (40), *Deschamsia caespitosa* (L.) Beauv. (10), *Clinelymus sibiricus* (L.) Nevski (40), *Elymus junceus* Fisch. (11), *Festuca arundinacea* Schreb. (10), *F. sulcata* Hack. (30), *F. pratensis* Huds. (60), *F. rubra* L. (2), *Dactylis glomerata* L. (60), *Hierochloa odorata* L. (2), *Hordeum vulgare* Jessen. (400), *H. brevisubulatum* Link. (12), *Panicum miliaceum* (L.) (30), *Phalaris arundinaceae* Rausch. (40), *Poa pratensis* L. (10), *Phleum pratense* L. (60), *Ph. phleoides* (L.) Simonk. (20), *Secale cereale* L. (5), *Triticum aestivum* L. (озимая) (1500), *Roegneria canina* (L.) Nevski (5).

¹ в скобках указано количество образцов.

Семейство Amaranthaceae: *Amaranthus caudatus* L. (8), *A. cruentus* L. (12), *A. edulis* Speg. (8), *A. powellii* Spegazzini (8), *A. spinosus* L. (2), *A. graecizans* L. (2), *A. tricolor* L. (6), *A. viridis* L. (8), *A. hybridus* L. (10), *A. lividus* L. (2), *A. retroflexus* L. (2), *A. deflexus* L. (4).

Семейство Ranunculaceae: *Paeonia anomala* L. (20).

Семейство Rosaceae: *Spiraea salicifolia* L. (1), *Sanguisorba officinalis* L. (20), *Rosa acicularis* Lindl. (4), *Rhodiola rosea* Lindl. (5).

Семейство Fabaceae: *Medicago sativa* L. (40), *M. platycarpa* L. (4), *M. falcata* L. (60), *M. borealis* Grossh. (2), *Melilotus alba* Medik. (40), *M. officinalis* (L.) Desr. (25), *Trifolium lupinaster* L. (10), *T. arvense* L. (5), *T. pratense* L. (10), *T. repens* L. (6), *T. hybridum* L. (20), *Astragalus alopecurus* Pall. (3), *A. uliginosus* L. (21), *A. onobrychis* L. (10), *A. danicus* Retz. (3), *Oxytropis pilosa* (L.) DC. (5), *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (12), *Hedysarum neglectum* Ledeb. (1), *Onobrychis tanaitica* Spreng. (50), *Vicia sepium* L. (5), *V. angustifolia* L. (5), *V. unijuga* A. Br. (3), *V. silvatica* L. (10), *V. cracca* L. (2), *Lathyrus pratensis* L. (15), *L. palustris* L. (5), *L. gmelinii* (Fisch.) Fritsch. (2), *Galega orientalis* Lam. (30), *Lupinus polyphyllus* Lindl. (2), *Lotus corniculatus* L. (3).

Семейство Cannabiaceae: *Cannabis sativa* L. (2), *Humulus luteus* L. (2).

Семейство Urticaceae: *Urtica dioica* L. (2), *U. urens* L. (3).

Семейство Polygonaceae: *Rumex acetosa* L. (5), *R. acetosella* L. (2), *R. pseudonatronatus* Borb. (2), *Polygonum weyrichii* L. (1), *Fagopyrum sagittatum* Gilib. (10), *F. tataricum* (L.) Gaertn. (2).

Семейство Linaceae: *Linum ussitatissimum* L. (1).

Семейство Malvaceae: *Malva meluca* L. (6).

Семейство Guttiferae: *Hypericum perforatum* L. (30), *H. elegans* Steph. (3).

Семейство Cruciferae: *Sinapis alba* L. (25), *Camelina glabrata* (DC.) Fritsch. (1), *Bunias orientalis* L. (5), *Isatis tinctoria* L. (1), *Brassica napa* – *oliefera* L. (25).

Семейство Umbelliferae: *Eryngium planum* L. (5), *Vupleurum aureum* Fisch. (10), *Heracleum dissectum* Ledeb. (10), *H. sibiricum* L. (5), *Angelica silvestris* L. (12), *Archangelica decurrens* Ledeb. (8).

Семейство Plumbaginaceae: *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze. (3).

Семейство Boraginaceae: *Lithospermum officinale* L. (10).

Семейство Labiatae: *Dracocephalum nutans* L. (5), *Phlomis tuberosa* L. (8), *Leonurus glaucescens* Bge. (6), *Mentha arvensis* L. (2).

Семейство Asteraceae: *Aster tripolium* L. (3), *Inula helenium* L. (1), *Achillea millefolium* L. (12), *Tanacetum vulgare* L. (11).

Семейство Liliaceae: *Allium altaicum* L. (7), *A. odoratum* L. (6), *A. chinense* Willd. (2), *A. nutans* L. (12), *A. schoenoprasum* L. (5), *Veratrum lobelianum* Bernh. (2), *Hemerocallis flava* L. (4).

Говоря о дикорастущей флоре Сибири, выдающийся сибирский ботаник П.Н. Крылов писал: «... здесь возникает новая флора уже далеко не роскошная, но, тем не менее, свидетельствующая о той могучей силе, с которой природа стремится содержать жизнь и при самых, по-видимому, неблагоприятных условиях существования» (Куминова, 1960. С. 11). Именно эти неблагоприятные условия делают наши коллекции уникальными. Своеобразие почв и климата, резко выраженная зональность, разнообразие рельефа определили здесь формирование популяций растений, устойчивых к экстремальным условиям среды. Огромные пространства Сибири способствовали формированию видového и популяционного разнообразия. В качестве примера, подтверждающего этот факт, можно привести результаты изучения запасных белков семян методом электрофореза у ежи сборной (*Dactylis glomerata* L.). Было показано, что белки семян этого вида гетерогенны и содержат до 39 компонентов, которые комплексируются, образуя 8 типов спектров. Оказалось, что образцы ежи сборной из разных географических регионов различаются по типам белковых спектров (Железнова и др., 1997).

Примером заимствования коллекций из других научных учреждений может служить коллекция люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.). Изучение этой коллекции в условиях Горного Алтая и Новосибирской области привело нас к выводу о возможности интродукции этого вида в указанные регионы, что открывает в свою очередь возможности для пополнения набора высокобелковых культур в Западной Сибири (Железнова и др., 1991; Железнов и др., 2008).

Экспериментальное получение новых форм было осуществлено нами на озимой пшенице, амаранте и картофеле. На озимой пшенице были получены мутанты, обладающие более высокой зимостойкостью, чем исходные сорта Ульяновка, Алабаская и Мироновская 808. Так, зимостойкость сорта Ульяновка была повышена в среднем с 70 до 95 %, сорта Алабаская – с 50 до 75 % и сорта Мироновская 808 – с 20 до 55 %. Кроме того, при скрещивании зимостойких мутантов с европейскими и американскими сортами были получены гибриды, обладающие также устойчивостью к листовой ржавчине, полеганию, с крупным зерном, более высокой продуктивной кустистостью и некоторыми другими положительными признаками. В настоящее время в коллекции имеется более 800 таких гибридов третьего и четвертого поколений.

Известно, что инбридинг у перекрестноопыляемых культур позволяет выявить скрытую наследственную изменчивость и получить генетически однородные линии по комплексу различных признаков и свойств. Исходя из этого, мы провели самоопыление ряда образцов амаранта и получили линии 5–7 поколений. Полученные линии, действительно, были более однородными по сравнению с исходными популяциями. Что касается морфологических признаков, обнаружено значительное разнообразие по окраске листьев и соцветий, форме метелок, высоте растений и др. Кроме того, линии различались по некоторым биохимическим показателям (содержание белка и жира в зерне, содержание витамина С и каротина в зеленой массе). К настоящему времени в коллекции имеется более 1 тыс. таких линий (Железнов и др., 2005, 2008).

Одним из заболеваний картофеля является ризоктониоз, вызванный грибом *Rhizoctonia solani*. Была разработана специальная методика селекции с использованием биотехнологических приемов и получены клоны картофеля, устойчивые к нему (Леонова и др., 2003), пополнившие имеющуюся в ИЦиГ коллекцию новой ценной формой. Следует подчеркнуть, что для проведения этой работы потребовалось изучение коллекционных образцов картофеля, для того чтобы выявить положительную реакцию на различные концентрации культурального фильтрата гриба *R. solani*.

Таким образом, применение генетических методов позволяет расширить пределы изменчивости и получить новые формы растений и тем самым обогатить генофонды некоторых видов растений.

Сохранение коллекций

В ряду последовательных действий по сбору и изучению генофондов важное место занимают вопросы их сохранения. Существует несколько форм сохранения генофондов.

1. Сохранение целых ландшафтов – огромных пространств с населяющими их животными и растениями. Сохранение *in situ* требует проведения организационных мероприятий и значительных финансовых затрат. Поэтому при создании резерватов для сохранения наиболее ценных видов растений необходим особый подход. Такие резерваты за рубежом уже имеются. Хорошо известным примером является заповедник Монотлан в Мексике, где сохраняется очень редкий вид, родственник кукурузе, – *Zea diploperennis*. При организации таких резерватов помимо организационных возникают вопросы научного плана, связанные с малой численностью сохраняемых популяций. Инбредная депрессия, генетический дрейф, уровень полиморфизма, необходимая численность популяции, при которой может действовать естественный отбор, – далеко не полный перечень вопросов, требующих своего решения.

2. Сохранение *ex situ*: а) выращивание живых коллекций или создание так называемых полевых банков (рис. 1) и б) сохранение семян. В случае применения первого метода можно использовать следующие пособия: «Руководство к практическим занятиям по селекции и семеноводству полевых культур» (Попова и др., 1955) и «Методические указания по селекции многолетних трав» (Смурыгин и др., 1985). Узкое место для применения этого метода – отсутствие изоляции индивидуальных образцов перекрестноопыляемых культур. Без изоляции выращивание перекрестноопыляемых видов ведет к потере исходных образцов, изменению частот генов и прочим последствиям, связанным с перекрестным опылением.

Другой способ сохранения генофондов *ex situ* – это сохранение семян. Длительное вре-

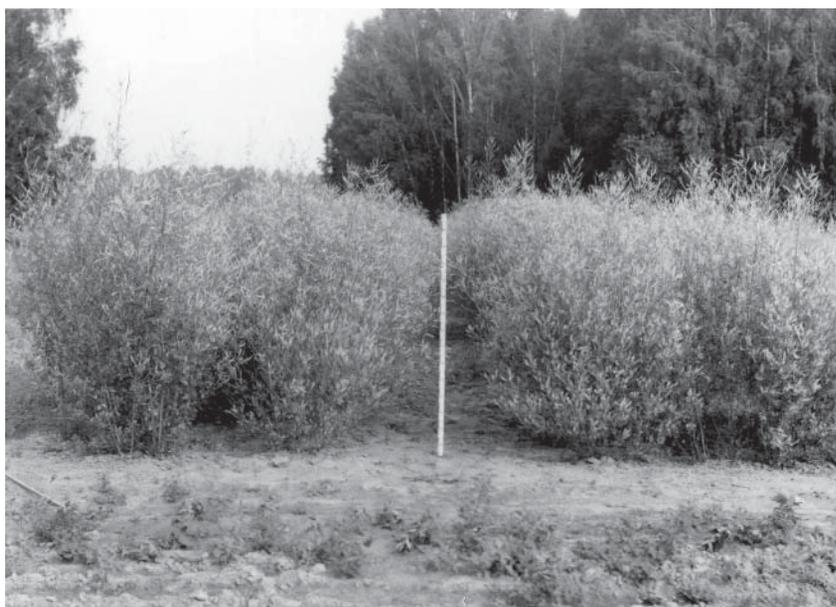


Рис. 1. Коллекционный питомник донника *Melilotus adans*.

мя Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова (г. Санкт-Петербург) и другие научные учреждения сохраняли собранные коллекции именно этим способом – в обычных помещениях, так как в России существует только одно национальное хранилище на Майкопской опытной станции ВИР. Но этот способ требует периодического пересева коллекций, так как семена по истечении определенного срока теряют всхожесть. Кроме того, при консервации семян вероятны как точковые мутации, так и хромосомные перестройки, что ведет к изменению генома сохраняемого образца. Нельзя также не учитывать механическое и гибридогенное засорение, которые представляют наибольшую опасность при сохранении коллекций этим методом. Несмотря на эти недостатки, мы в своей работе пользуемся как первым, так и вторым способом сохранения коллекций. Генофонд картофеля сохраняется в пробирочной культуре *in vitro*, предварительно освобожденной от вирусной и грибной инфекций (рис. 2).

Изучение коллекций

Основная цель изучения коллекций состоит в том, чтобы определить степень генетической изменчивости дикорастущих и культивируемых видов растений. Изучение полиморфизма позволяет определить границы изменчивости

или, как говорил Н.И. Вавилов, необходимо «установить дифференциал вида». Он считал, что «селекция ближайшего будущего должна включать систематизированные научные знания, вскрывающие сортовую амплитуду видов, систему видов, крайние варианты, амплитуду физиологических, химических и иных свойств» (Вавилов, 1987). Это в свою очередь позволяет выделить доноры хозяйственно ценных признаков. Такими донорами являются выделенные нами солеустойчивые формы люцерны и амаранта, некоторые виды донника с исключительно низким содержанием кумарина, хорошо облиственные тетраплоидные формы костреца безостого, высокозимостойкие формы озимой пшеницы, амаранты с высоким содержанием масла и сквалена и другие.

Следует сказать, что коллекции рассматриваются не только в плане сохранения генофондов, но и как объекты для решения теоретических и прикладных задач генетики и селекции растений. В качестве примера можно привести целый ряд разноплановых исследований, выполненных на одном из объектов нашей коллекции – амаранте. Это растение является одним из объектов реинтродукции видов, ранее возделываемых человеком, но со временем забытых. Второе рождение амаранта связано с его уникальными свойствами и возможностью использования в промышленности и сельском хозяйстве.



Рис. 2. Сохранение картофеля *in vitro*.

Изучение роста и развития амаранта, динамики роста, семенной продуктивности и урожая зеленой массы, содержания белка в зерне и каротина в листостебельной массе выявило значительную изменчивость этих признаков (Железнов и др., 1989, 1990; Zheleznov *et al.*, 1997). Для наглядности приведем лишь некоторые данные по варьированию признаков, полученных на основе изучения коллекции амаранта:

- высота растений – от 100 до 320 см;
- соцветия – от 30 до 61 см;
- окраска зерна – белая, черная, коричневая, золотистая, янтарная;
- вегетационный период – от 90 до 130 дней;
- масса 1000 семян – от 0,2 до 0,9 г;
- содержание белка в зерне – от 13 до 21 %;
- содержание лизина – от 150 до 550 мг на 100 г зерна;
- содержание сахара в листьях – 5–16 %;
- содержание масла в зерне – от 3 до 9 %;
- урожайность зеленой массы – от 3 до 10 т/га;
- урожайность зерна – от 0,2 до 1,5 т/га.

Учитывая, что знание биологии опыления и способов размножения растений является существенным в понимании эволюционных процессов, а также представляет большой интерес для эффективной интродукции и селекции, мы провели анализ завязываемости семян

при самоопылении и свободном перекрестном опылении у трех видов амаранта (*A. cruentus*, *A. caudatus* и *A. lividus*). Было показано (Железнов и др., 2001), что популяции этих видов полиморфны по способам размножения и состоят из самофертильных и самостерильных растений. В структуре популяций большую часть составляют самостерильные растения и только 34,7; 18,7 и 12,5 % составляют самофертильные растения соответственно у *A. cruentus*, *A. caudatus* и *A. lividus*. Уровень самофертильности в первый год изоляции был высоким, но при последующих самоопылениях он резко снижался, что объясняется влиянием инбридинга. Завязываемость семян как при самоопылении, так и при свободном опылении определяется тремя факторами: видовыми особенностями растений, влиянием условий выращивания и инбредной депрессией. Наибольшее влияние на завязываемость семян оказывают условия вегетации. Степень влияния этого фактора варьировала при свободном опылении от 0,53 до 0,87, при самоопылении – от 0,13 до 0,68. Дисперсионный анализ показал незначительное влияние взаимодействия этих факторов. Ранговый коэффициент корреляции Спирмена показал высокозначимую согласованность между образованием семян у *A. caudatus* и *A. lividus* при двух способах опыления. Для групп линий, выделенных из трех видов амаран-

та, характерны большие межлинейные различия по завязываемости семян при самоопылении и свободном перекрестном опылении.

Известно, что коррелятивная изменчивость используется в селекции давно, так как твердо установленные эмпирические корреляции создают базу для прогноза, упрощают отбор, ускоряют и удешевляют селекционный процесс (Образцов, 1981). Выполненный нами корреляционный анализ 10 признаков амаранта позволил установить коэффициенты корреляции между всеми возможными сочетаниями изучавшихся признаков и показать различную силу связей одних признаков по сравнению с другими. Наиболее сильную связь показали признаки «высота растений»–«длина соцветий», «ширина листа» и «длина листа»–«количество пасынков», «урожайность зеленой массы»–«ширина листа», «урожайность зеленой массы»–«количество пасынков». Отсюда следует, что имеются некоторые предпосылки для раннего прогноза результатов отбора наиболее ценных форм, например, по урожайности зеленой массы. Выявлено, что самоопыленные потомства отдельно взятого образца имеют специфическую структуру корреляционных отношений, и что признаки одной функциональной группы могут комплексироваться в отдельные блоки, называемые корреляционной плеядой (Терентьев, 1959). Изучена также дивергенция корреляционных структур на внутривидовом, внутривидовом и межвидовом уровнях. Установлены критерии дивергенции корреляционных структур для указанных систематических категорий. Показано, что КДК видов в 1,5–2,0 раза выше, чем КДК образцов и в 5–6 раз выше, чем КДК линий. Степень дивергенции корреляционных структур у разных видов может различаться в зависимости от их филогенетического родства и соотношений внутри вида (Железнов и др., 2007).

Кроме изучения полиморфизма морфологических и хозяйственных признаков амаранта были проведены исследования по выявлению генетической изменчивости структурных белков и изоферментов. Методом электрофореза в полиакриламидном геле показано, что белки семян изученных видов амаранта гетерогенны и состоят из 38 компонентов, которые по убыванию электрофоретической подвижности условно разделены на 4 зоны: А, В, С и D. Уста-

новлено, что виды амаранта различаются по спектрам запасных белков семян. Эти различия в одних случаях ограничены одними и теми же вариантами запасного белка, в других – числом вариантов. Таким образом, представленный материал свидетельствует о высоком уровне межвидового и внутривидового полиморфизма в роде *Amaranthus* L. Некоторые исследователи основной причиной значительной дифференциации форм считают широкую меж- и внутривидовую интрогрессию генетического материала (Sauer, 1967). Не отрицая значения гибридизации и интрогрессии как фактора увеличения генетической изменчивости в роде *Amaranthus*, нельзя не принимать во внимание, что амарант расселился по всем континентам земного шара и что расселение не могло не привести к эволюционным преобразованиям.

Методом электрофореза в крахмальном геле выявляли электрофоретические спектры алкогольдегидрогеназы (АДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), изоцитратдегидрогеназы (ИДГ) и малик-энзима (Мэ) в популяциях культивируемых и диких видов амаранта. Проанализировано 93 популяции и 4 сорта амаранта: Валентина, Чергинский, Эльбрус и Кугельмарант. Большинство изученных популяций были мономорфны по всем изученным локусам. Наличие полиморфизма в отдельных популяциях позволило установить генетический контроль вышеуказанных ферментов (Юдина и др., 2005). Выявлена низкая аллозимная изменчивость в исследованном материале. 73 популяции и 4 сорта были мономорфны по всем исследованным ферментам. Три популяции были полиморфны по трем локусам: *Adh*, *Mdh 2* и *Gdh* одновременно. 2 популяции – по локусам *Adh* и *Mdh 2* и 2 популяции – по локусам *Adh* и *Gdh*.

Низкий уровень полиморфизма наблюдался в ряде популяций по отдельным локусам: *Adh*, *Mdh 2*, *Gdh*, *Idh 1*, *Idh 2* и *Mod2*. Полученные результаты свидетельствуют о наличии генетического мономорфизма у амаранта по изученным локусам (Юдина и др., 2008).

Данные по низкой аллозимной изменчивости у изученных нами популяций и сортов совпадают с результатами других исследователей. При изучении полиморфизма у локальных образцов амаранта из Индии американскими

исследователями выявлены высокий уровень морфологической изменчивости и почти полное отсутствие изозимной (Jain *et al.*, 1980). Другой группой исследователей при изучении трех диких видов амаранта: *A. hybridus*, *A. retroflexus* и *A. powelli* из девяти районов Калифорнии и образцов трех domesticiрованных видов: *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* и *A. cruentus* также обнаружена низкая внутри- и межвидовая изозимная изменчивость (Hauptli *et al.*, 1978). Аналогичные результаты, полученные разными группами исследователей, использовавшими разные ферменты для изучения амаранта из разных географических регионов, позволяют предположить, что низкий уровень генетической изменчивости по изоферментным локусам, вероятно, является видоспецифическим признаком амаранта. В настоящее время известно много примеров мономорфизма биохимических локусов в популяциях различных видов растений и животных. Согласно гипотезе Ю. Алтухова, мономорфные биохимические признаки связаны с жизненно важными функциями, остающимися неизменными в меняющейся среде. «Генетический мономорфизм – отсутствие изменчивости заведомо наследственного признака на всем видовом ареале или же наличие в пределах вида редких дискретных вариантов с частотой, не исключающей их поддержание повторяющимися

ся мутациями. Это определение подчеркивает реальность генетического мономорфизма как природного явления, характеризующего вид в целом, и предполагает обнаружение такой инвариантности на любом структурном уровне организации живого» (Алтухов, 2003. С. 255).

Полученные данные положены в основу дальнейших исследований по интродукции и селекции амаранта.

Использование коллекций

Выше было отмечено, что собранные коллекции могут использоваться для создания сортов. Подтверждением этому является создание двух сортов амаранта и одного сорта эспарцета. Амарант Чергинский создан методом индивидуально-группового отбора из коллекционного образца к-40197. Сорт отличается высокой урожайностью зеленой массы и скороспелостью. Он устойчив к болезням и вредителям, обладает хорошей адаптивностью и поэтому районирован в 5 областях западной Сибири и Алтайском крае. Сорт кормового назначения. Сорт Янтарь создан на основе 5 самоопыленных линий амаранта с высокой комбинационной ценностью. Сорт зернового направления. Характеристика сортов представлена в табл. 1. Из таблицы видно, что амарант Янтарь имеет более высокие

Таблица 1

Характеристика новых сортов амаранта Янтарь и Чергинский

Показатели	Сорт		Отклонение, %
	Янтарь	Чергинский	
Урожайность зеленой массы, ц/га	483,0	407,0	+18,7
Выход сухого вещества, ц/га	104,7	90,2	+16,0
Урожайность семян, ц/га	16,0	13,6	+17,6
Высота растений, см	173,0	156,0	+10,8
Вегетационный период, дней	106,0	99,0	-7,0
Устойчивость к засухе, балл	3,8	3,9	-2,6
Содержание сырого протеина, %	13,3	13,1	+1,5
Сахар в зеленой массе, %	0,78	0,49	+59,2
Содержание лизина, г/100 г зерна	0,43	0,33	+30,3
Содержание белка в зерне, %	18,2	14,5	+25,5
Содержание жира в зерне, %	9,7	5,7	+70,1
Содержание сквалена в жире, %	9,7	4,9	+97,9

показатели по всем признакам, за исключением вегетационного периода и устойчивости к засухе. Обращает на себя внимание более высокое содержание жира и сквалена в зерне амаранта Янтарь по сравнению с амарантом Чергинский. Это позволяет использовать амарант Янтарь не только как сорт зернового назначения, но и как источник сквалена – ценного биологически активного вещества, широко применяемого при лечении многих заболеваний.

В 2007 г. на государственное сортоиспытание был передан новый сорт эспарцета Алтайский. Сорт был создан путем межвидовой гибридизации эспарцетов *Onobrychis transcaucasica* и *Onobrychis arenaria* с последующим индивидуальным-групповым отбором. Отборы проводились на провокационных фонах, причем наибольшее внимание уделялось зимостойкости и засухоустойчивости.

Основные параметры сорта приведены в табл. 2. Из этой таблицы видно, что почти по всем показателям сорт Алтайский превышает стандартный сорт Песчаный 1251. Так, по урожаю зеленой массы превышение составило 19%, по урожаю сена – 23%, по урожаю семян – 16%. При одной и той же высоте растений со стандартным сортом сорт Алтайский имеет большую кустистость, что является неоспоримым фактором его более высокой урожайности.

Зимостойкость нового сорта составила 4,4 балла. По этому признаку он не уступает такому высокозимостойкому сорту, как Песчаный 1251. Раньше считалось, что эспарцет закавказский не может существовать в условиях Сибири. Однако нами показано, что гибриды закавказского эспарцета с песчаным позволяют получить вполне зимостойкие формы. То же можно сказать и о признаке засухоустойчиво-

Таблица 2

Хозяйственная и биологическая характеристика эспарцета Алтайский

Показатель	Алтайский	Песчаный (ST)	Отклонение от ST, ц/га, %	
Урожай зеленой массы, ц/га	179,3	151,2	+28,1	19,0
Урожай сена, ц/га	47,5	38,7	+8,0	23,0
Урожай семян, ц/га	5,9	5,1	+0,7	16,0
Высота растений, см:				
1-го укоса	96,3	95,0	+1,3	1,3
2-го укоса	46,0	46,3	-0,3	0,6
Зимостойкость, балл	4,4	4,4	0	0
Засухоустойчивость, балл:				
весной	4,2	3,9	+0,3	7,6
летом	3,7	3,5	+0,2	5,7
Поражаемость болезнями, %:				
мучнистой росой	9,6	13,4	+3,8	28,3
фузариозом	18,1	24,1	+0,6	24,8
Поражаемость вредителями, %	7,9	7,8	-0,1	1,2
Вегетационный период, дней от весенней вегетации до:				
1-го укоса	57,0	57,0	0	0
полной спелости семян	96,0	95,0	-1	1,0
Кормовая ценность:				
белок, %	17,5	14,4	+3,1	21,5
клетчатка	23,8	28,8	+5,8	20,1
Кормовых ед. в 1 кг корма, кг	0,71	0,67	+0,04	5,9
Поедаемость	51,4	50,2	+1,2	2,4

сти. Таким образом, эспарцет песчаный, обладающая феноменальной зимостойкостью и засухоустойчивостью, выступает как донор этих важных признаков.

Новый сорт обладает высокими показателями кормовой ценности. Его кормовая масса содержит белка на 21 % больше, а клетчатки на 20 % меньше, чем стандартный сорт Песчаный 1251. Это можно объяснить более высокой облиственностью эспарцета Алтайский – признаком, полученным от эспарцета закавказского. Особенностью нового сорта является его более высокая устойчивость к болезням и вредителям, в частности устойчивость к поражению мучнистой росой и фузариозом.

В заключение следует подчеркнуть, что представленный нами материал надо рассматривать не только с селекционной точки зрения, но и с позиций изучения биологического разнообразия в целом. Рассматривая внутривидовое разнообразие как фактор эволюционной устойчивости видов, Ю.И. Чернов (1991) отмечал недостаточную изученность этой функции внутривидовой неоднородности. Поэтому включение полученных нами данных в общий поток информации по биологическому разнообразию будет способствовать развитию этого направления. Генофонды различных видов растений – это тот фундамент, на котором зиждется познание биологического разнообразия во всех его проявлениях.

Литература

- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях М.: ИКЦ Академкнига, 2003. С. 255.
- Вавилов Н.И. Селекция как наука // Теоретические основы селекции. М.: Наука, 1987. С. 35.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Колосова Л.Д., Шумный В.К. Перспективы возделывания амаранта на кормовые цели и семена // Сиб. вестник с.-х. науки. 1989. № 4. С. 49–53.
- Железнова Н.Б., Железнов А.В., Колосова Л.Д., Шишкалова Н.М. Изучение исходного материала для селекции амаранта в условиях среднегорья Алтая // Генетика хозяйственно ценных признаков высших растений. Новосибирск, 1990. С. 200–221.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Бурмакина Н.В. О коллекции самоопыленных линий амаранта // Селекция и семеноводство. 2005. № 1. С. 12–13.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Бурмакина Н.В. Корреляции и корреляционные плеяды в селекции, эволюции и систематике // Реализация идей Н.И. Вавилова на современном этапе развития генетики, селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур: Сб. статей X генетико-селекционной школы, посвященной 120-летию Н.И. Вавилова. Новосибирск, 2007. С. 87–100.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Бурмакина Н.В. Оценка коллекции люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) в связи с интродукцией в условиях Новосибирской области // Сиб. вестник с.-х. науки. 2008. № 3. С. 48–54.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Бурмакина Н.В., Солоненко Л.П. Сравнительный анализ самоопыленных линий амаранта (*Amaranthus* L.) в связи с его интродукцией в Западной Сибири // Сиб. вестник с.-х. науки. 2008. № 7. С. 10–16.
- Железнов А.В., Железнова Н.Б., Шумный В.К. Анализ завязываемости семян у трех видов амаранта (*Amaranthus cruentus*, *A. caudatus*, *A. lividus*) при свободном опылении и самоопылении // Цитология и генетика. 2001. Т. 35. № 1. С. 39–45.
- Железнова Н.Б., Железнов А.В., Колосова Л.Д., Шишкалова Н.М. К интродукции люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) в Горном Алтае // Генетика культурных видов растений. Новосибирск, 1991. С. 119–143.
- Железнова Н.Б., Солоненко Л.П., Железнов А.В. Генетическое разнообразие популяций ежи сборной (*Dactylis glomerata* L.) луговых фитоценозов Западной Сибири и Алтая // Современные концепции эволюционной генетики. 1997. Часть I. С. 101–104.
- Жуковский П.М. Значение мировых коллекций Всесоюзного института растениеводства в общих и частных проблемах селекции // Ботан. журнал. 1956. Т. 41. № 2. С. 161–171.
- Куминова А.В. Растительный покров Алтая. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1960. 449 с.
- Леонова Н.С., Шалдыева Е.М., Кукоева Т.В. Создание форм картофеля, устойчивых к ризоктониозу // Актуальные проблемы генетики: Сб. статей второй конф. Моск. об-ва генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова. М., 2003. С. 135–136.
- Образцов А.С. Биологические основы селекции растений. М.: Колос, 1981. С. 226–237.
- Попова Г.М., Леонтьев В.М., Козлова Ф.И., Абрамова З.В. Руководство к практическим занятиям по селекции и семеноводству полевых культур. М.; Л.: Сельхозгиз, 1955. 404 с.
- Смурыгин М.А., Новоселова А.С., Константинова А.М. и др. Методические указания по селекции многолетних трав. М.: ВИК, 1985. 188 с.
- Терентьев П.В. Метод корреляционных плеяд // Вест. Ленингр. ун-та, 1959. № 9. С. 137–141.

- Чернов Ю.И. Биологическое разнообразие: сущность и проблемы // Усп. соврем. биологии. 1991. Т. 3. Вып. 4. С. 449–507.
- Юдина Р.С., Железнова Н.Б., Захарова О.В. и др. Изозимная оценка генетической коллекции амаранта (*Amaranthus* L.) // Генетика. 2005. Т. 41. № 12. С. 1684–1687.
- Юдина Р.С., Ибрагимова С.С., Железнова Н.Б. Изучение структуры популяций амаранта (*Amaranthus* L.) по изоферментным локусам // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 3. С. 385–390.
- Jain S.K., Wie L., Vaidya K.R. Levels of morphological and isozymic variation of Indian *Amaranthus*: a striking contrast // Heredity. 1980. V. 71. P. 283–285.
- Hauptli H., Jain S.K. Biosystematics and agronomic potential of some weedy and cultivated *Amaranthus* // Theor. Appl. Genet. 1978. V. 52. P. 177–175.
- Sauer Y.D. The grain amaranthus and their relatives // Ann. Missouri Bot. Garden. 1967. V. 54(2). P. 103–137.
- Zheleznov A.V., Solonenko L.P., Zheleznova N.B. Seed proteins of the wild and cultivated *Amaranthus* species // Euphytica. 1997. V. 97. P. 177–182.

**DEVELOPMENT, PRESERVATION, INVESTIGATION AND UTILIZATION
OF THE GENE POOL OF FODDER AND MEDICINAL PLANTS
AT THE INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS**

A.V. Zheleznov, N.B. Zheleznova, N.V. Burmakina, N.S. Leonova, R.S. Yudina

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: zheleznov@bionet.nsc.ru

Summary

Methods of formation, preservation, investigation and utilization of plant genetic collections are considered. The following genetic methods are used to add new forms to the collections: experimental mutagenesis, inbreeding and intraspecies and interspecies crossing. In addition to being a tool for preserving gene pools, the collections are regarded as means for solution of fundamental and practical problems of plant genetics and breeding.

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В КОНТРОЛЕ РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОФОНДОВ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

В.И. Глазко

Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева,
Москва, Россия, e-mail: vglazko@yahoo.com

Рассмотрен полиморфизм «анонимных» фрагментов ДНК, фланкированных декануклеотидными инвертированными повторами (RAPD-PCR), инвертированными повторами участков микросателлитов (ISSR-PCR), микросателлитом и терминальным участком ретротранспозона (REMAP-PCR), а также инвертированным повтором терминального участка ретротранспозона. Получены данные о неслучайных геномных распределениях исследованных фрагментов ДНК в геномах различных таксонов и зависимости таких распределений от нуклеотидной последовательности флангов. Обсуждается соответствие полученных данных теории «хромосомных полей» А. Лима-де-Фария о тесной связи между нанометровым и микрометровым масштабами организации генетического материала. Подчеркивается необходимость при генофондных исследованиях учитывать принадлежность молекулярно-генетических маркеров к различным семействам геномных элементов, отличающихся своей локализацией, структурно-функциональной организацией, консервативностью/полиморфизмом и эволюцией.

Ключевые слова: культурные растения, генетические элементы, полиморфизм.

По данным организации по пищевым ресурсам и сельскому хозяйству (Food and Agriculture Organization – FAO, www.fao.org) при ООН деградация плодородных почв, водных ресурсов, сокращение биоразнообразия культурных видов растений приобрели угрожающие размеры, фактически несовместимые с устойчивым развитием сельского хозяйства в глобальном масштабе. Одним из основных компонентов сокращения биоразнообразия, по результатам анализа этой организации, является вытеснение стародавних сортов улучшенными или коммерческими вариантами. Причем несмотря на глобальный характер, этот процесс не контролируется.

Выполненные немногочисленные исследования показали, что множество стародавних сортов уже исчезло и не вошло в генбанки. Так, например, подсчитано, что из 7098 сортов яблонь, которые использовались между 1804 и 1904 гг., утрачено около 86%. Не существует 95% сортов, полевых рас и разновидностей капусты, 91% кукурузы, 94% горошка и 81% томатов.

Сокращаются и популяции диких предковых видов, например, земляного ореха и дикого риса в Китае, кукурузы в Мексике. В Перу среди 90 описанных диких видов картофеля 35 уже не удастся найти.

Несмотря на пионерские работы Н.И. Вавилова в создании генетического банка растений, Россия не является лидером в этом направлении. Более того, в 1600 основных мировых генбанках культурных растений (некоторые из них носят имя Н.И. Вавилова) собраны около 3 миллионов образцов, но только 1% из них исследован в отношении их фенотипических характеристик (Жученко, 2004).

Одной из центральных проблем в сохранении биоразнообразия является решение вопроса: что сохранять и как отбирать то, что нуждается в сохранении в первую очередь. Многие годы предпринимаются попытки решить эту проблему. На ранних этапах разработки этого направления проводились с помощью фенотипических признаков, далее – с помощью молекулярно-ге-

нетических маркеров полиморфизма различных участков ДНК. Молекулярно-генетические маркеры можно подразделить на разные поколения. К первому из них относятся электрофоретические варианты белков, полиморфизм которых отражал несинонимичные замены в кодирующих последовательностях, которые приводили к существенному изменению электрического заряда белковой молекулы – продукта конкретного гена. Следующим было выявление мини- и микросателлитных повторов, полиморфизм которых был связан со вставками-делециями элементарной единицы повтора и, как правило, отличался от белкового полиморфизма более широким аллельным разнообразием, а также отсутствием информации о функции. Тем не менее все это были методы анализа полиморфизма отдельных локусов. Далее появились методы оценок полиморфизма полилокусных спектров анонимных фрагментов ДНК, о которых было известно только то, что на флангах локализованы инвертированные повторы.

Развитие методов нанобиотехнологий – работ с последовательностями ДНК в нанометровом масштабе – позволило появиться таким новым направлениям, как геномика. Структурная геномика оценивает, в частности, геномное разнообразие, функциональная – профили экспрессии различных генов.

Геномика предполагает также внутривидовое и внутривидовое сравнение геномов.

Использование ДНК биочипов позволило обнаружить множественные мононуклеотидные сайты полиморфизма (SNP), создать карты их распространения вдоль геномов, выявить сегментные дубликации и выделить наиболее консервативные участки ДНК в некодирующих геномных последовательностях.

В то же время в отличие от точковых мутаций, сегментных дубликаций анализ распределения инвертированных повторов позволяет оценивать особенности взаимного позиционирования нуклеотидных последовательностей, способных к участию в формировании вторичных структур ДНК, необходимых, в частности, для опознавания регуляторных сигналов.

Очевидно, что инвертированные повторы объединяют гетерогенную по структурно-функциональным характеристикам группу нуклео-

тидных последовательностей, для которых, по-видимому, невозможно обнаружить некоторые универсальные черты внутригеномного распределения.

В наших исследованиях полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными декануклеотидами (RAPD-PCR) на геномной ДНК сортов ячменя, а также разных видов млекопитающих были получены следующие данные. Полилокусные спектры RAPD-PCR зависят от нуклеотидной последовательности декануклеотида; распределение инвертированных декануклеотидных повторов для отдельных видов и таксонов имеет выраженные таксон-специфичные черты; спектры продуктов амплификации в основном определяются 6 нуклеотидами на 3'-конце; отмечается широкая изменчивость динамики накопления продуктов амплификации с разных участков генома при одних и тех же условиях ПЦР.

Выполнен анализ распределения потенциальных сайтов отжига декануклеотидов UBC-85 и UBC-126 (RAPD-PCR маркеры, дифференцирующие некоторые виды млекопитающих) в секвенированных последовательностях различных таксонов (Глазко и др., 1997).

Наибольшее количество ампликонов при поисках полного совпадения с UBC-85 выявляется у вирусов (57) и прокариот (75); к UBC-126 – у грибов (19), прокариот (20) и беспозвоночных (15). Наименьшее количество выявлено по UBC-85 у человека (3), грызунов (4), позвоночных (3) и растений (6); по UBC-126 – у человека (5), грызунов (1), позвоночных (2), других (кроме человека и грызунов) млекопитающих (0), растений (6).

Для таких таксонов, как человек, грызуны, другие млекопитающие, позвоночные, растения, некоторые длины ампликонов являются «перепредставленными» по сравнению с другими.

У беспозвоночных, вирусов и прокариот распределение частот встречаемости ампликонов разной длины относительно более равномерно. Тем не менее спектр потенциальных ампликонов у вирусов, полученный с использованием UBC-85 (252 ампликона), существенно отличается от выявляемого при использовании UBC-126 (38 ампликонов).

Полученные данные свидетельствуют о наличии определенной неслучайности распре-

деления сайтов узнавания декануклеотидов – специфичности спектра ампликонов в зависимости от используемого праймера и исследуемого таксона.

В исследованиях на геномах сортов и близкородственных видов сои, сортов пшениц выявлен широкий размах изменчивости в спектрах продуктов амплификации при использовании в качестве праймера фрагментов микросателлитных локусов с различными коровыми последовательностями (ISSR-PCR).

Обращает на себя внимание высокая точность воспроизводства спектров ампликонов, полученных таким образом: обнаруживаются выраженные отличия между спектрами в случае использования в качестве праймера одного и того же корового микросателлитного мотива, но с разными «якорными» нуклеотидами, а также в случае мотива, сдвинутого на один нуклеотид или комплементарного ему. Это свидетельствует о достаточно высокой точности идентификации флангов амплифицируемых фрагментов ДНК (Глазко и др., 1999).

Наибольшее количество продуктов амплификации у разных видов получается при использовании в качестве праймеров фрагментов пурин/ пиримидиновых последовательностей (ди-, тринуклеотидные микросателлиты GA, AG, GAG, CTC). Для участков ДНК, фланкированных такими инвертированными повторами, отмечается и наибольший консерватизм по длинам продуктов амплификации, полученным на геномной ДНК различных видов.

Два динуклеотидных мотива – (GA)₉C и (CA)₉G – в базе данных пг для *Arabidopsis thaliana* отличались тем, что первый встречался с существенно большей частотой, чем второй, при этом 38 % от общего числа сайтов гомологии локализовано в последовательностях dbEST, входящих в состав мРНК.

Иное распределение обнаруживается по сайтам гомологии к микросателлиту (CA)₉G – их частота встречаемости почти в четыре раза ниже в геноме данного вида, чем первого динуклеотида, и только 10 % от общего числа сайтов локализовано в транскрибируемых районах (Глазко и др., 1999).

Накопленные данные свидетельствуют о наличии неслучайности в распределении фрагментов ДНК, фланкированных инвертирован-

ным повтором участка микросателлитного локуса в зависимости от его нуклеотидной последовательности и принадлежности к пурин/пиримидиновым трекам.

Известно, что микросателлитные локусы с относительно повышенной частотой позиционированы в геноме с последовательностями ретротранспозонов. Для выяснения этого вопроса на сортах овса были выполнены сравнения спектров продуктов амплификации, полученных с использованием одного праймера – фрагмента микросателлитного локуса, и двух, когда один праймер был тот же, а второй представлял собой фрагмент терминальной последовательности ретротранспозона (Календарь, Глазко, 2002). Оказалось, что спектры, полученные с использованием двух праймеров, существенно более обогащены продуктами амплификации, чем при амплификации фрагментов ДНК, фланкированных только инвертированным повтором микросателлита.

То есть экспериментально было показано, что близкое расположение микросателлита и ретротранспозона встречается чаще, чем инвертированные микросателлиты.

Анализ распределения длин участков ДНК, фланкированных инвертированными повторами терминальных участков ретротранспозонов у сортов риса, пшеницы, также свидетельствует об отсутствии равновероятного рассеивания таких фрагментов по длине генома.

Накопленные данные позволяют ожидать, что наиболее полиморфным вариантом молекулярно-генетических маркеров, удобных для решения ряда прикладных задач в генофондных исследованиях культурных растений, могут быть маркеры, основанные на оценке полиморфизма участков ДНК, связанных с транспозирующими элементами.

Таким образом, накопленные данные о распределении различных вариантов инвертированных повторов свидетельствуют об их внутригеномной организованности.

Такая организованность согласуется с наблюдениями А. Лима де Фария о неслучайности чередования гетерохроматиновых блоков по длине хромосом у ряда видов растений и позволила ему сформулировать гипотезу о «хромосомных полях», благодаря которым нуклеотидные последовательности и скопление различных

семейств повторов, включая центромерные и теломерные, непосредственно связаны с морфологией хромосом (Lima-de-Faria, 1987).

В последние годы накоплено много данных, свидетельствующих в пользу представлений А. Лима де Фариа о тесной связи между молекулярной структурой материала наследственности и морфологией хромосом, – тем, что Лима де Фариа называл «хромосомным фенотипом».

К таким данным относятся факты неслучайного распределения ретротранспозонов по длине хромосом *Arabidopsis* (Kendal, Suomela, 2005), а также ряда видов грибов; неслучайная локализация семейств ретротранспозонов в центромерных районах некоторых видов растений, в частности кукурузы (Jin *et al.*, 2005), локализация ретротранспозонов в теломерных районах хромосом.

В представления о взаимной детерминированности микро- и наноуровней организации генетического материала хорошо укладываются данные об участии механизмов ретровирусной экспансии в возникновении самой линейной хромосомы эукариот, ее теломерных и центромерных структур.

В этой связи очевидно, что оценки геномных полиморфизмов должны выполняться с учетом принадлежности молекулярно-генетических маркеров к семействам различных геномных элементов, имеющих неслучайное распределе-

ние по длине хромосом, структурно-функциональную организацию, а также закономерности консервативности/полиморфизма и эволюции. Использование для генофондных исследований только определенных типов молекулярно-генетических маркеров может приводить к существенному искажению результатов генофондных сравнений при экстраполяции получаемых данных на геномную изменчивость.

Литература

- Глазко В.И., Дубин А.В., Календарь Р.Н. и др. Генетические взаимоотношения между сортами сои, оцененные с использованием ISSR маркеров // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 5. С. 47.
- Глазко Г.В., Рогозин И.Б., Глазко В.И. и др. Экспериментальные и расчетные спектры ампликонов UBC-85 и UBC-126 (RAPD-PCR) // Цитология и генетика. 1997. Т. 31. № 5. С. 32–35.
- Жученко А.А. Ресурсный потенциал производства зерна в России. М.: Изд-во Агрорус, 2004. 1109 с.
- Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиол. и биохим. культ. растений. 2002. № 4. С. 279–296.
- Jin W., Lamb J.C., Vega J.M. *et al.* Molecular and functional dissection of the maize B chromosome centromere // The Plant Cell. 2005. V. 17. P. 1412–1423.
- Kendal W.S., Suomela D.P. Large-scale genomic correlations in *Arabidopsis thaliana* relate to chromosomal structure // BMC Genomics. 2005. V. 6. P. 82.
- Lima-de-Faria A. The Chromosome field theory confirmed by DNA and hybridization // Riv. Biol. Biol. Forum. 1987. V. 80. P. 266–268.

ESTIMATIONS OF POLYMORPHISM OF DIFFERENT GENOME ELEMENTS FOR CONTROLLING GENE POOLS OF CULTIVATED PLANTS

V.I. Glazko

Russian State Agrarian University – K.A. Timiryasev Moscow Agricultural Academy,
Moscow, Russia, e-mail: vglazko@yahoo.com

Summary

Polymorphism of «anonymous» fragments of DNA, flanking by inverted repeats of decanucleotides (RAPD-PCR), inverted repeats of microsatellite loci (ISSR-PCR), microsatellite and a terminal region of retrotransposones

(REMAP – PCR), and also the inverted repeats of terminal regions of retrotransposone was considered. Data about non-random distribution of the investigated DNA fragments in genome DNA of various taxa and the dependence of such distribution of nucleotide sequences on DNA fragment's flanks were observed.

Conformity of the received data to the theory of «chromosomal fields» of A. Lima-de-Faria about the close connections between nanometer and micrometer scales in the genetic material organization was discussed. It has been emphasized that in the course of gene pool investigations it is necessary to take into consideration the molecular-genetic markers belonging to various families of genome elements, differing in their localization, structural-functional organization, conservatism/polymorphism and evolutionary pathway.

RAPD АНАЛИЗ ВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА РОДА ЧИНА *LATHYRUS* L. СЕМЕЙСТВА FABACEAE LINDL.

М.А. Вишнякова, М.О. Бурляева, Н.В. Алпатьева, Ю.В. Чесноков

ГНУ ГНЦ РФ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург,
Россия, e-mail: m.vishnyakova@vir.nw.ru

Изучен молекулярный полиморфизм представителей родов *Lathyrus*, *Vicia*, *Lens*, *Pisum* семейства Fabaceae: трибы Viciaeae посредством RAPD анализа и определен уровень меж- и внутривидового полиморфизма. Основной акцент сделан на исследовании видов рода *Lathyrus*. Получены данные, позволяющие уточнить имеющиеся морфо-биологические системы рода *Lathyrus*, в частности, усомниться в отнесении видов секции *Cicerula* к типовой секции рода, объединении в один вид *Lathyrus articulatus* и *L. clymenum* и, напротив, получить аргументы в пользу объединения в один вид *L. japonicus* и *L. maritimus*. Впервые установлен различный уровень видовой изменчивости генома у видов: *L. sativus*, *L. cicera*, *L. inconspicuus*, *L. sphaericus*, *L. aphaca*, *L. pratensis*, *L. sylvestris*, *L. latifolius*, *L. tuberosus* и некоторых других. Показана возможность идентификации видов, а также выявления внутривидового и внутривидового полиморфизма *Lathyrus* RAPD анализом. В то же время вопросы о детальном статусе и объеме внутривидовых групп (секций) по-прежнему остаются наиболее спорными в систематике рода и не могут быть окончательно решены на основе полученных в настоящем исследовании данных.

Ключевые слова: чина, система рода, RAPD анализ, полиморфизм.

Введение

Род *Lathyrus* L. – один из представителей трибы Виковых (Viciaeae (Adans.) Bronn), сем. Fabaceae Lindl. В эволюционном плане триба считается наиболее специализированной в семействе. Лианоподобная травянистая форма роста, которой обладают виковые, – вторичное усложнение, возникшее из древних деревянистых тропических лиан в процессе их продвижения в умеренные области, считается вершиной эволюции (Серебряков, 1962). Кроме того, наличие усиков, характерное только для этой трибы бобовых, позволяет ее представителям лучше, чем другим лазящим растениям, приспособляться к самым разнообразным биотопам. Вместе с тем триба до сих пор имеет множество таксономических проблем, поскольку наличие общих морфологических признаков у видов трибы служит причиной разных мнений о количестве реальных родов в ней и таксономической принадлежности видов к родам. До настоящего времени вызывают сомнения границы родов

и видов, так как в них сочетаются черты прогрессивной эволюции и редукации с общими признаками предковых форм и четко выражен параллелизм. Триба дифференцирована слабо, имеет огромный ареал, несколько центров первичного и вторичного происхождения. Кроме того, многие крупные роды трибы не изучались в монографическом плане в мировом масштабе, а были предметом внимания флористов на ограниченных участках ареала.

Внутривидовая структура рода *Lathyrus*, его объем и филогения также являются предметом принципиальных разногласий. Существующие на современном этапе системы рода *Lathyrus*, основанные на географо-морфологическом и анатомическом методах, не решают основные противоречия в систематике рода, а именно: в определении объема рода и его секций. В классификации рода Р. Киріча (1983), впервые изучившей его в мировом масштабе на основе географо-морфологических и анатомических критериев, до настоящего времени остаются спорные утверждения. Принципиальное возра-

жение ряда современных исследователей вызывает объединение родов *Orobus* L. и *Lathyrus* в системе этого автора (Баранов, Бурляева, 1990; Станкевич, Репьев, 1999) и в исторической перспективе имеющих статус самостоятельных родов (Linnaeus, 1753; Adanson, 1763; Willdenow, 1802; Alefeld, 1861; Boissier, 1872 и др.).

Анализ биологического разнообразия, исследование взаимоотношений между и/или внутри различных видов, популяций, так же как и между отдельными генотипами (особями), создание систем для планомерного использования генофонда в фундаментальных исследованиях и селекции издавна являются одной из основных задач при работе с коллекцией ВИР. Пополнение методического арсенала решения этих задач методами маркирования генофонда посредством ПЦР амплификации ДНК прежде всего с произвольными (МААР-анализ) (Caetano-Anolles, 1994), а впоследствии и со специфичными праймерами (см. обзор Чесноков, 2005 и др.) открыло новые возможности для изучения структуры геномов, в том числе и для таксономических и филогенетических построений.

Ранее в ряде работ была проведена молекулярно-генетическая оценка систематики и биогеографии рода *Lathyrus*, основанная на использовании молекулярного полиморфизма внутренних транскрибируемых спейсеров генов рРНК и хлоропластной ДНК (Kenicer *et al.*, 2005), полиморфизма последовательности гена *matK* (Steele, Wojciechowski, 2003), а также данных AFLP (Badr *et al.*, 2002) и RAPD анализов (Croft *et al.*, 1999). Однако все эти работы давали противоречащие друг другу данные. Так, например, анализ хлоропластной ДНК выявил близость голарктических видов секции *Orobus* и видов секции *Notolathyrus* из Северной Америки, а также сходство видов монотипных секций *Orobon* и *Orobastrum* с видами секции *Lathyrus* (Asmussen, Liston, 1998). Авторы включили виды секции *Notolathyrus* в секцию *Orobus* и предложили либо разделить секцию *Lathyrus* на три небольшие секции *Orobon*, *Lathyrus*, *Orobastrum*, либо расширить эту секцию за счет включения в ее состав секций *Orobastrum* и *Orobon*. Кроме того, авторы признают самостоятельный статус секции *Cicerula* и указывают на близкое родство между видами

Lathyrus pratensis L. и *L. aphaca* L., которое предполагала Р. Курича (1983). AFLP анализ видов секции *Lathyrus* показал, что разделение этого таксона на ряд секций не правомерно, и все виды, входящие в нее, имеют монофилетическое происхождение (Badr *et al.*, 2002). Определенную групповую дифференциацию показал, однако, RAPD анализ 8 видов *Lathyrus*, которые сгруппировались в соответствии с принадлежностью к трем секциям: *Lathyrus*, *Clymenum* и *Linearicarpus* (Croft *et al.*, 1999). Однако набор изученных видов в этом исследовании слишком мал для того, чтобы судить о систематических разграничениях и филогенетических связях в роде *Lathyrus*. Таким образом, несмотря на накопленные факты, полученные посредством молекулярных методов, многие вопросы внутривидовой структуры рода, его объема и филогении по-прежнему требуют разрешения.

Цель данной работы состояла в уточнении имеющихся морфо-биологических систем рода *Lathyrus* посредством молекулярного RAPD анализа генома представителей рода из коллекции ГНУ ГНЦ РФ ВИР, а также их последующей молекулярно-генетической паспортизации.

Материалы и методы

Растительный материал. Материалом для исследования служила репрезентативная выборка из коллекции ВНИИР им. Н.И. Вавилова, состоящая из 250 образцов видов трибы *Vicieae* (49 видов), относящихся по системам F.K. Курича (1976, 1983) к 4 родам (*Lathyrus*, *Lens* Mill., *Vicia* L., *Pisum* L.), по классификации А.К. Станкевич – к 10 родам (*Orobus* L., *Bona* Medik., *Faba* Mill., *Vicia*, *Ervum* L., *Lens*, *Ervilia* (L.) Link., *Pisum* L., *Lathyrus* L., *Clymenum* Mill.) и 7 секциям рода чина (*Aphaca* (Miller) Dumort., *Nissolia* (Miller) Dumort., *Eulathyrus* Ser., *Cicerula* (Medik.) Gren et Godr., *Orobastrum* Boiss., *Pratensis* Bässler, *Linearicarpus* Kupicha), а также проблематичного вида *Vicia unijuga* A. Вг. (*Orobus lathyroides* L.), принадлежащего, по разным классификациям, к различным таксонам (*Orobus* – *Vicia* – *Lathyrus*). Были изучены образцы с известными морфо-биологическими характеристиками из разных частей ареала рода (табл. 1).

Таблица 1

Список изученных видов трибы Viciae (Adans.) Bronn¹

№	Название вида	Число изученных образцов	Происхождение образца
Род <i>Lathyrus</i> L.			
Секция <i>Orobus</i> (L.) Gren et Godr. ²			
1	<i>Lathyrus gmelinii</i> Fritsch 2	1	Алтай
2	<i>Lathyrus japonicus</i> Willd. 2	1	Канада
3	<i>Lathyrus linifolius</i> (Reichard) Baessler ²	2	Германия, Норвегия
4	<i>Lathyrus maritimus</i> (L.) Bigel. ²	1	Карелия
5	<i>Lathyrus palustris</i> L. ²	1	Карелия
6	<i>Lathyrus pisiformis</i> L. ²	3	Алтай, Куйбышевская обл.
7	<i>Lathyrus vernus</i> (L.) Bernh. ²	3	Германия, Финляндия
Секция <i>Pratensis</i> Bassler			
8	<i>Lathyrus pratensis</i> L.	16	Канада, Франция, Италия, Финляндия, Карелия, Ленинградская обл., Казахстан, Тюменская обл., Омская обл., Екатеринбургская обл., Архангельская обл., Алтай, Закарпатье, Краснодарский край
Секция <i>Linearicarpus</i> Kupicha			
9	<i>Lathyrus angulatus</i> L.	2	Португалия
10	<i>Lathyrus inconspicuus</i> L.	11	Иран, Сирия, Туркмения, Узбекистан, Армения, Грузия, Чехословакия
11	<i>Lathyrus sphaericus</i> Retz.	7	Италия, Чехословакия, Турция
Секция <i>Lathyrus</i>			
12	<i>Lathyrus annuus</i> L. ⁴	6	Израиль, Палестина, Сирия, Турция, Иран, Германия
13	<i>Lathyrus cassius</i> Boiss. ⁴	3	Сирия, Ирак
14	<i>Lathyrus chloranthus</i> Boiss. ⁴	4	Иран, Армения, США
15	<i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. ⁴	2	Сирия
16	<i>Lathyrus cicera</i> L. ⁴	8	Сирия, Алжир, Греция, Австралия
17	<i>Lathyrus ciliolatus</i> Rech. F. ⁴	2	Сирия
18	<i>Lathyrus gorgoni</i> Parl. ⁴	4	Сирия, Турция
19	<i>Lathyrus heterophyllus</i> L.	1	Франция
20	<i>Lathyrus hierosolymitanus</i> Boiss. ⁴	3	Сирия
21	<i>Lathyrus hirsutus</i> L. ⁴	6	Австралия, Чехословакия, Франция, Ставропольский кр., Азербайджан, Туркмения
22	<i>Lathyrus latifolius</i> L.	11	США, Германия, Швейцария, Италия, Венгрия, Краснодарский кр., Англия, Закарпатье
23	<i>Lathyrus mulkak</i> Lipsky	2	Таджикистан
24	<i>Lathyrus odoratus</i> L. ⁴	4	США, Голландия
25	<i>Lathyrus pseudo-cicera</i> Pampan. ⁴	2	Австралия, Иордания
26	<i>Lathyrus rotundifolius</i> Willd.	1	Германия
27	<i>Lathyrus sativus</i> L. ⁴	53	Италия, Испания, о. Кипр, Эфиопия, Алжир, Малая Азия, Сирия, Иран, Грузия, Памир, Индия, Куйбышевская обл., Украина, Германия, Аргентина

Окончание таблицы 1

№	Название вида	Число изученных образцов	Происхождение образца
28	<i>Lathyrus sylvestris</i> L.	14	Франция, Венгрия, Карпаты, Германия, Норвегия, Бельгия, Финляндия, Ленинградская обл., Псковская обл., Азербайджан, Корея
29	<i>Lathyrus tingitanus</i> L. ⁴	6	Австралия, Эквадор, Португалия, Польша, Чехословакия
30	<i>Lathyrus tuberosus</i> L.	6	Краснодарский кр., Армения, Грузия, Германия, Алтай, Новосибирская обл.
Секция <i>Orobastrum</i> Boiss.			
31	<i>Lathyrus setifolius</i> L.	1	Турция
Секция <i>Aphaca</i> (Miller) Dumort			
32	<i>Lathyrus aphaca</i> L.	15	Индия, Пакистан, Афганистан, Азербайджан, Краснодарский кр., Грузия, Армения, Туркмения, Израиль, Палестина, Швейцария, Англия, Бельгия, Уругвай
33	<i>Lathyrus stenolobus</i> Boiss.	1	Турция
Секция <i>Nissolia</i> (Miller) Dumort			
34	<i>Lathyrus nissolia</i> L.	5	Австралия, Португалия, Венгрия, Швейцария, Норвегия
Секция <i>Clymenum</i> (Miller) Dumort ²			
35	<i>Lathyrus articulatus</i> L. ²	5	Австралия, Венгрия, Португалия, о. Крит, Марокко
36	<i>Lathyrus clymenum</i> L. ²	7	Австралия, Германия, Чехословакия, Португалия, Греция, Болгария, о. Крит
37	<i>Lathyrus gloeospermus</i> Warb. et Eig. ²	2	Сирия
38	<i>Lathyrus ochrus</i> L. ²	5	Австралия, Португалия, Греция, Турция, Англия
Род <i>Pisum</i> L.			
39	<i>Pisum elatius</i> Steven ex M. Bieb.	1	–
40	<i>Pisum sativum</i> L.	6	Памир, Манчжурия, Африка, Дания, Египет, Армения
Род <i>Lens</i> Mill.			
41	<i>Lens culinaris</i> Medik.	2	Воронежская обл., Пензенская обл.
Род <i>Vicia</i> L.			
42	<i>Vicia peregrina</i> L.	1	Азербайджан
43	<i>Vicia sativa</i> L.	1	Московская обл.
44	<i>Vicia villosa</i> Roth	1	Тамбовская обл.
45	<i>Vicia narbonensis</i> L. ³	1	Алжир
46	<i>Vicia unijuga</i> A.Br. ³	1	Новосибирская обл.
47	<i>Vicia faba</i> L. ³	6	Украина, Финляндия, Россия
48	<i>Vicia hirsuta</i> (L.) Gray ³	1	Португалия
49	<i>Vicia ervilia</i> Willd. ³	1	Украина

¹ Виды представлены в соответствии с системой трибы Viciae F.K. Kupicha (1976, 1983) кроме *Lathyrus maritimus*, включенного данным автором в *Lathyrus japonicus*, и *Lathyrus articulatus*, отнесенного ею к *Lathyrus clymenum*. ² Виды секций *Orobos* (Miller) Dumort и *Clymenum* (L.) Gren et Godr. рода *Lathyrus* по классификации А.К. Станкевич (Станкевич, Репьев, 1999) относятся соответственно к роду *Orobos* L. и роду *Clymenum* Mill. ³ По классификации Станкевич (Станкевич, Репьев, 1999) *Vicia narbonensis* L. принадлежит к роду *Bona* Medik., *Vicia faba* к роду *Faba* Mill., *Vicia hirsuta* к роду *Ervum* L., *Vicia ervilia* к роду *Ervilia* (L.) Link., *Vicia unijuga* A. Br. к роду *Orobos*. ⁴ Виды секции *Cicercula* (Medik.) Gren et Godr. в системе F.K. Kupicha (1983), принадлежащие к секции *Lathyrus* (*Eulathyrus* Ser.).

Выделение ДНК. Выделение тотальной геномной ДНК проводили по описанной ранее методике (Edwards *et al.*, 1991) из 4–10-дневных проростков индивидуальных растений каждого образца, а также из смеси 5–10 проростков семян одного образца. Количество ДНК, экстрагируемой при использовании указанного метода, было не менее 0,5 мкг на образец. Чистота полученных препаратов составляла $OD_{260/280} = 1,6–1,9$. Все ПЦР реакции проводили в двукратной повторности. Кроме того, ДНК ряда образцов также экстрагировали двукратно (в нескольких повторностях). Всего было выделено и проанализировано 614 препаратов ДНК видов и популяций трибы Viciaeae.

RAPD анализ. Реакцию амплификации проводили в реакционной смеси объемом 15 мкл, содержащей 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM каждого dNTP; 0,5 мкМ праймера; 0,3 единицы Taq полимеразы («ДИАЛАТ ЛТД», Москва), 1x буфер из соответствующего набора, и 100 нг геномной ДНК в термоциклере «Teche» (США) в режиме: денатурация – 30 с. при 94 °С; отжиг праймера – 45 с. при 37 °С; синтез ДНК – 50 с. при 72 °С с числом циклов – 38 и предварительной денатурацией – 5 мин (94 °С). Заключительный цикл элонгации осуществляли при 72 °С – 10 мин.

Продукты реакции разделяли электрофорезом в 1,8 %-м агарозном геле в 1xTAE буфере с добавлением этидиум бромид и фотографировали с помощью Transilluminator UVP Bio Doc-It™ Imaging System, модель M-20. Размеры амплифицированных фрагментов определяли относительно маркера 1 kb SmartLader 1700-02 (Нидерланды).

Статистический анализ данных. Статистический анализ включал составление бинарных матриц по каждому из праймеров, в которых отмечалось «присутствие» (1) или «отсутствие» (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Каждый RAPD фрагмент рассматривался как отдельный генетический локус. Характер и степень RAPD изменчивости анализировали в отношении праймера и образца. На основании суммарной матрицы RAPD спектров с помощью компьютерного программного пакета NTSYSpc 2.02 были определены генетические дистанции между исследуемыми образцами. Для построения дендрограммы, демонстрирующей филогенетические отноше-

ния между изучаемыми образцами видов рода *Lathyrus* по результатам RAPD анализа, применили метод невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA) с использованием программы NTSYSpc 2.02 и TREECON.

Результаты и обсуждение

Предварительная отработка условий RAPD анализа была проведена на наборе из 20 образцов – представителей 4 родов трибы Viciaeae (*Lathyrus*, *Vicia*, *Lens*, *Pisum*) и 7 секций рода *Lathyrus* (*Aphaca*, *Nissolia*, *Eulathyrus*, *Cicercula*, *Orobastrum*, *Pratensis*, *Linearicarpus*), включая проблематичный вид *Vicia unijuga* = *Orobolus lathyroides* L. Для анализа возможности детекции внутривидового полиморфизма были взяты по 4 представителя видов *L. sativus* и *Vicia faba*. Подбор RAPD праймеров, выявляющих как межвидовой, так и внутривидовой полиморфизм генома *Lathyrus*, проводился с использованием 22 стандартных 10-нуклеотидных праймеров серии OPA, OPD, OPE, OPH, OPK, OPN (Operon Technologies, USA), ранее отобранных как эффективно выявляющие геномный полиморфизм представителей Solanaceae, Lemnaceae и Poaceae (Кочиева и др., 2001; Кочиева и др., 2002; Kochieva *et al.*, 2004). Возможность использования данного набора праймеров для анализа представителей Fabaceae, как оказалось, весьма ограничена. Большинство праймеров не позволили идентифицировать генотипы всех представителей трибы Viciaeae. Лишь 9 из 22 праймеров могли выявить межвидовой полиморфизм *Lathyrus* и только 3 праймера были способны выявить внутривидовой полиморфизм генома у анализируемых представителей *L. sativus* и *Vicia faba*.

Подобранные праймеры OPA10, OPH2, OPH3, OPH6, OPH9, OPK4, OPK8, OPK9, OPK10 были использованы для оценки геномного полиморфизма 250 отобранных образцов. Большинство исследованных видов отличались значительным внутривидовым полиморфизмом. Основная зона разделения фрагментов находилась в пределах от 150 до 3000 п.н. (рис. 1).

В целом учитывалось 286 амплифицированных фрагментов. В результате для каждого из анализируемых образцов были идентифициро-

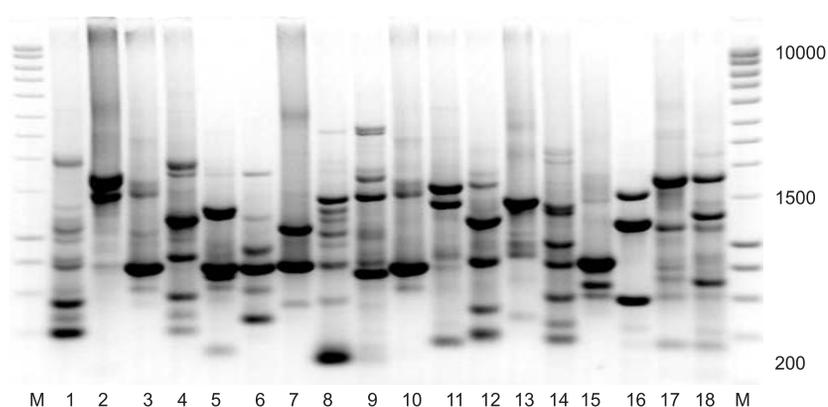


Рис. 1. Электрофоретические спектры RAPD фрагментов 16 видов трибы Viciaeae (праймер ОРК09).

М – маркер молекулярной массы SmartLader 1700-02 (Нидерланды). 1, 4 – *Vicia unijuga*; 2 – *Lathyrus japonicus*; 3 – *Pisum elatius*; 5 – *V. sativa*; 6 – *V. narbonensis*; 7 – *V. hirsuta*; 8 – *V. peregrina*; 9 – *V. villosa*; 10 – *P. sativum*; 11 – *Lens culinaris*; 12 – *V. ervilia*; 13 – *V. faba*; 14 – *L. sativus*; 15 – *L. sylvestris*; 16 – *L. ochrus*; 17 – *L. vernus*; 18 – *L. gmelinii*.

ваны индивидуальные RAPD спектры амплифицированных фрагментов ДНК.

Для геномов представителей трибы *Viciae* был определен мономорфный фрагмент с подвижностью 1000 пар оснований (ОРН6₁₀₀₀) (рис. 2, 3), который присутствовал в спектрах всех изученных видов, и один фрагмент с подвижностью 1800 пар оснований (ОРН6₁₈₀₀), характерный для видов *Lens*, *Pisum*, *Vicia* (рис. 2).

Воспроизводимость на уровне 300–2000 п.н. была практически 100 %, за исключением ряда минорных фрагментов, которые не учитывали при подсчете.

Также по итогам проведенного RAPD анализа были установлены фрагменты, специфичные для секций; *Lathyrus* – ОРА14₈₈₀, секции *Linearicarpus* – ОРА17₉₄₀, секции *Pratensis* – ОРА10₆₈₀, ОРА16₃₀₀, секции *Aphaca* – ОРА14₁₅₀₀, ОРА16₁₈₀₀, секции *Nissolia* – ОРА10₉₅₀, секции

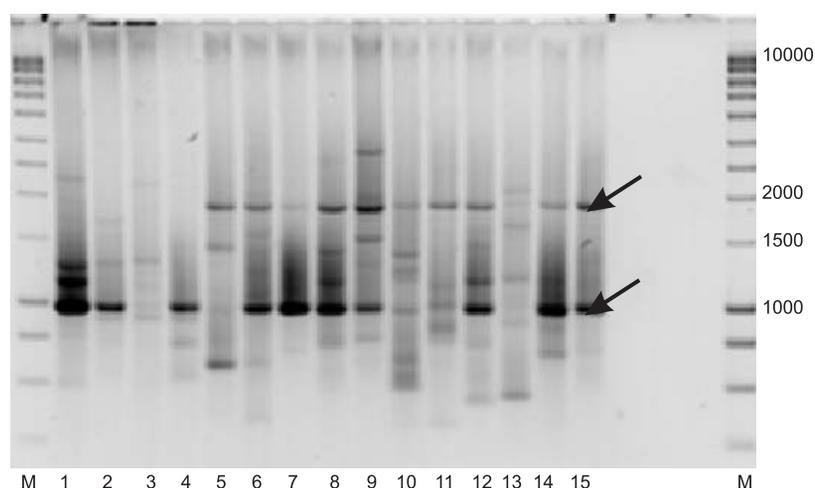


Рис. 2. Электрофоретические спектры RAPD фрагментов 15 видов трибы Viciaeae (праймер ОРН6).

М – маркер молекулярной массы SmartLader 1700-02 (Нидерланды). Нижней стрелкой обозначен мономорфный фрагмент, характерный для всех представителей трибы, верхней – фрагмент, выявленный у представителей родов *Lens*, *Pisum*, *Vicia*. 1 – *Lathyrus gloeospermus*, 2 – *L. ochrus*, 3 – *L. clymenum*, 4 – *L. articulatus*, 5 – *Vicia sativa*, 6 – *V. unijuga*, 7 – *V. narbonensis*, 8 – *Pisum elatius*, 9 – *V. villosa*, 10 – *V. hirsuta*, 11 – *V. peregrina*, 12 – *P. sativum*, 13 – *Lens culinaris*, 14 – *V. ervilia*, 15 – *V. faba*.

Clytemnum – ОРК₄₅₁₀, ОРК₉₁₂₅₀. Для секций *Orobis* и *Cicercula*, виды которых значительно отличались друг от друга по составу амплифицированных фрагментов ДНК, специфичные

фрагменты найдены не были. Для ряда видов чины были получены мономорфные видоспецифичные ампликоны, которые могут служить в качестве видоспецифичных маркеров (рис. 4).

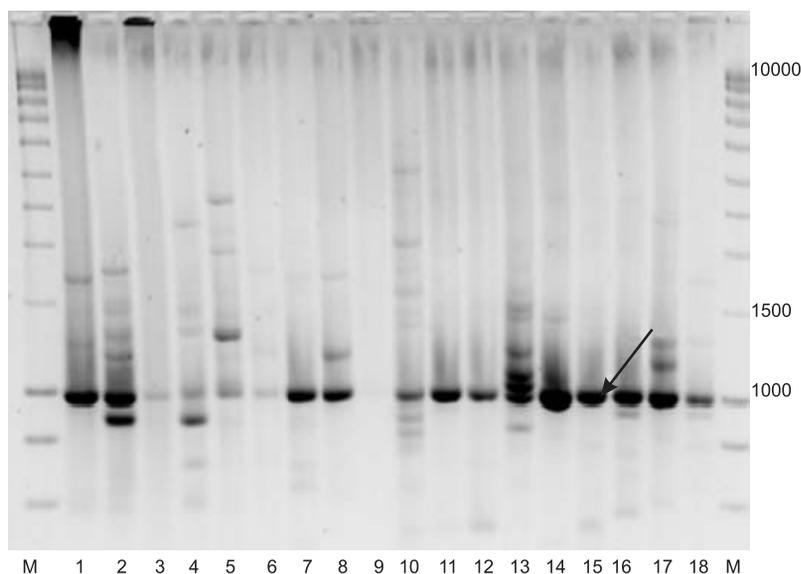


Рис. 3. Электрофоретические спектры RAPD фрагментов 18 видов рода *Lathyrus* (праймер ОРН6).

М – маркер молекулярной массы SmartLader 1700-02 (Нидерланды). Стрелкой обозначен компонент, мономорфный у всех представителей этих видов. 1 – *Lathyrus rotundifolius*, 2 – *L. tuberosus*, 3 – *L. cassius*, 4 – *L. odoratus*, 5 – *L. hirsutus*, 6 – *L. sphaericus*, 7 – *L. aphaca*, 8 – *L. inconspicuous*, 9 – *L. setifolius*, 10 – *L. nissolia*, 11 – *L. vernus*, 12 – *L. linifolius*, 13 – *L. japonicus*, 14 – *L. palustris*, 15 – *L. gmelinii*, 16 – *L. pisiformis*, 17 – *L. gloeospermus*, 18 – *L. ochrus*.

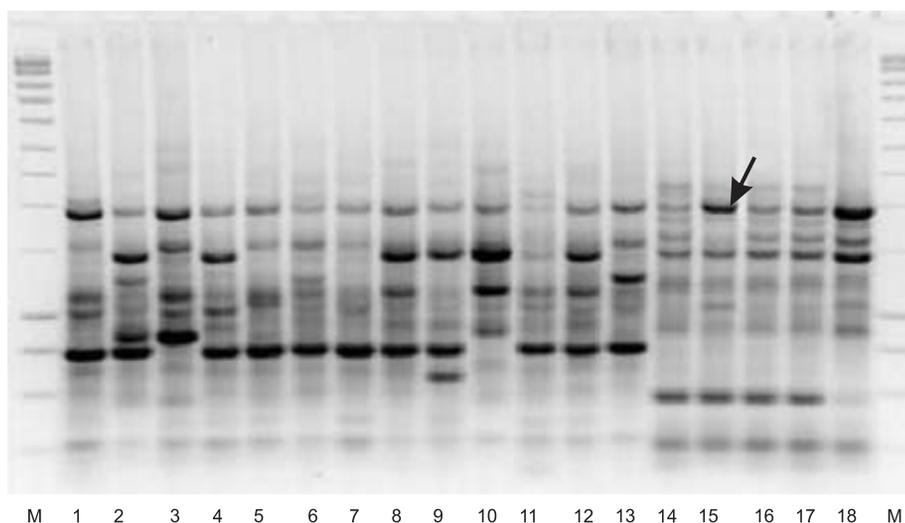


Рис. 4. Электрофоретические спектры RAPD фрагментов 13 образцов вида *L. sativus* (1–13) и 5 образцов *L. cicera* (14–18) разного происхождения, полученные с помощью праймера ОРА10.

Стрелкой обозначен компонент с молекулярной массой 1900 пар оснований, мономорфный у всех представителей этих видов. М – маркер молекулярной массы SmartLader 1700-02 (Нидерланды). 1 – к-704 (Италия); 2 – к-705 (Италия); 3 – к-240 (Германия); 4 – к-390 (о. Кипр); 5 – к-991 (Памир); 6 – к-772 (Испания); 7 – к-800 (Малая Азия); 8 – к-592 (Эфиопия); 9 – к-701 (Эфиопия); 10 – к-964 (Грузия); 11 – к-1684 (Сирия); 12 – к-13 (Иран); 13 – к-22 (Индия); 14 – к-100 (Германия); 15 – к-355 (Сирия); 16 – к-368 (Алжир); 17 – к-1418 (Австрия); 18 – к-1457 (Греция)¹.

¹ к – номер образца по каталогу ВИР. В скобках – происхождение образца.

Всего было получено 40 видоспецифичных фрагментов. Некоторые фрагменты были специфичны для группы видов из секции *Lathyrus*: для *L. sylvestris*, *L. latifolius*, *L. rotundifolius*, *L. heterophyllus* – ОРК9₈₀₀, для *L. sativus* и *L. cicera* – ОРА10₁₉₀₀.

Полученные мономорфные фрагменты могут считаться RAPD маркерами для представителей рода *Lathyrus*. При этом чем больше генетическая дистанция между исследуемыми видами, тем меньше у них общих продуктов амплификации. Выявляемые при электрофорезе мономорфные полосы у таксономически близких видов предполагают общность структурно-функциональной организации геномов этих видов. Каждый из видов в целом имел свой определенный спектр амплифицируемых RAPD продуктов, отличающийся от других количеством фрагментов, их размером и степенью выраженности. Некоторые праймеры, как указывалось выше, выявили присущие только одному конкретному виду ампликоны и, следовательно, являлись видоспецифичными.

Число суммарных зон, полученных при амплификации ДНК всех изученных видов рода *Lathyrus* с каждым из праймеров, варьировало от 5 до 25. Исследуемые образцы различались также по числу уникальных, характерных только для одного вида, ампликонов. Наибольшее их число присутствовало у *L. pratensis*, *L. tuberosus*, *L. latifolius*, *L. inconspicuus*, *L. aphaca*, *L. sylvestris*, *L. sativus*, *Vicia faba*. У *L. nissolia* и *L. gloeospermus* уникальных фрагментов не отмечалось (табл. 2).

Следует отметить, что наибольшим разнообразием по составу полиморфных фрагментов отличались виды *L. sativus*, *L. aphaca*, *L. pratensis*, *L. sylvestris*, *L. latifolius*. Наименьшее число полиморфных фрагментов наблюдалось у представителей видов: *L. gloeospermus*, *L. odoratus*, *L. chrysanthus*, *L. nissolia*. Полученные результаты указывают на значительный уровень межвидового и внутривидового полиморфизма (биоразнообразия) у представителей рода *Lathyrus*, выявляемого с помощью молекулярно-генетического анализа на уровне ДНК.

Для количественной оценки RAPD полиморфизма, выявляемого 4 RAPD праймерами (ОРА10, ОРК4, ОРК9, ОРН3), и определения уровня дивергенции между изученными видами

рода *Lathyrus*, а также другими родами трибы *Viciaeae*, была проанализирована ДНК 93 образцов представителей: 38 видов рода *Lathyrus*, 2 видов *Pisum*, 1 вида *Lens*, 8 видов *Vicia*. Полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которых наличие или отсутствие в RAPD спектрах одинаковых по размеру ампликонов рассматривалось как состояние 1 и 0 соответственно. На основе матрицы 226 полиморфных фрагментов ДНК построена единая обобщающая дендрограмма генетического подобия между изученными образцами видов рода *Lathyrus* (рис. 5).

На дендрограмме все роды трибы не образуют четких клад, однако ряд видов, в частности *Vicia faba* L., *Vicia ervilia* Willd. и др., формируют самостоятельные ветви, что говорит о возможности выделения их в самостоятельные таксоны (роды) и что имеет подтверждение в длительной истории их классификации. Из результатов нашего исследования очевидно, что триба Виковых представляет комплекс родственных видов, развитие которых шло параллельно, независимо друг от друга в зависимости от ареала и экологических условий. Это подтверждает мнение М.Г. Попова (1929) о высокой генетической однородности трибы Виковых, представляющей выдержанный комплекс форм, выделение родов из которого затруднительно и искусственно.

Кроме того, результаты сравнительного ПЦР анализа позволили сделать важные выводы о структуре секций рода. Так, представители секции *Cicerula* (Medik.) Gren et Godr. не образуют единый кластер и отдалены от видов типовой секции рода *Lathyrus*, что, по-видимому, свидетельствует о необоснованности их объединения в системе рода Kupicha (1983). Виды секции *Orobus* не образуют единой клады и представлены самостоятельными ветвями, что свидетельствует об их особом статусе и возможной неправомерности включения их в род *Lathyrus*. Кроме того, полученные данные выявили значительную разнородность оробоидных видов чин и вик, что ставит под сомнение точку зрения А.К. Станкевич (Станкевич, Репьев, 1999) и целого ряда ученых, объединяющих их в самостоятельный род *Orobus*.

Анализ генетического подобия подтвердил близость видов *L. articulatus* и *L. clymenum*,

Таблица 2

Дифференциация видов рода *Lathyrus*, выявленная посредством RAPD праймеров ОРА-10, ОРК-04, ОРК-09, ОРН-03

Название вида	Число изученных образцов	Аmplифицированные RAPD фрагменты		
		всего	мономорфные фрагменты	полиморфные фрагменты
<i>Lathyrus</i>				
<i>L. angulatus</i>	2	44	31	13
<i>L. annuus</i>	6	21	8	13
<i>L. aphaca</i>	15	55	4	51
<i>L. articulatus</i>	5	32	24	8
<i>L. cassius</i>	3	39	20	19
<i>L. chloranthus</i>	4	39	6	33
<i>L. chrysanthus</i>	2	13	12	1
<i>L. cicera</i>	8	26	15	11
<i>L. ciliolatus</i>	2	46	11	35
<i>L. clymenum</i>	7	32	13	19
<i>L. gloeospermus</i>	2	28	28	0
<i>L. gorgoni</i>	4	37	17	20
<i>L. hierosolymitanus</i>	3	31	17	14
<i>L. hirsutus</i>	6	28	15	13
<i>L. inconspicuus</i>	11	57	7	50
<i>L. latifolius</i>	11	62	6	56
<i>L. linifolius</i>	2	33	14	19
<i>L. nissolia</i>	5	36	36	0
<i>L. ochrus</i>	5	31	15	16
<i>L. odoratus</i>	4	34	30	4
<i>L. pisiformis L.</i>	3	38	34	10
<i>L. pratensis</i>	16	76	14	62
<i>L. pseudo-cicera</i>	2	18	6	12
<i>L. sativus</i>	53	63	15	48
<i>L. sphaericus</i>	7	50	30	20
<i>L. sylvestris</i>	14	55	6	49
<i>L. tingitanus</i>	6	30	3	27
<i>L. tuberosus</i>	6	62	12	50
<i>L. vernus</i>	3	43	30	13
<i>Pisum</i>				
<i>P. sativum</i>	6	45	28	17
<i>Lens</i>				
<i>L. culinaris</i>	2	46	36	8
<i>Vicia</i>				
<i>V. faba</i>	6	50	2	48

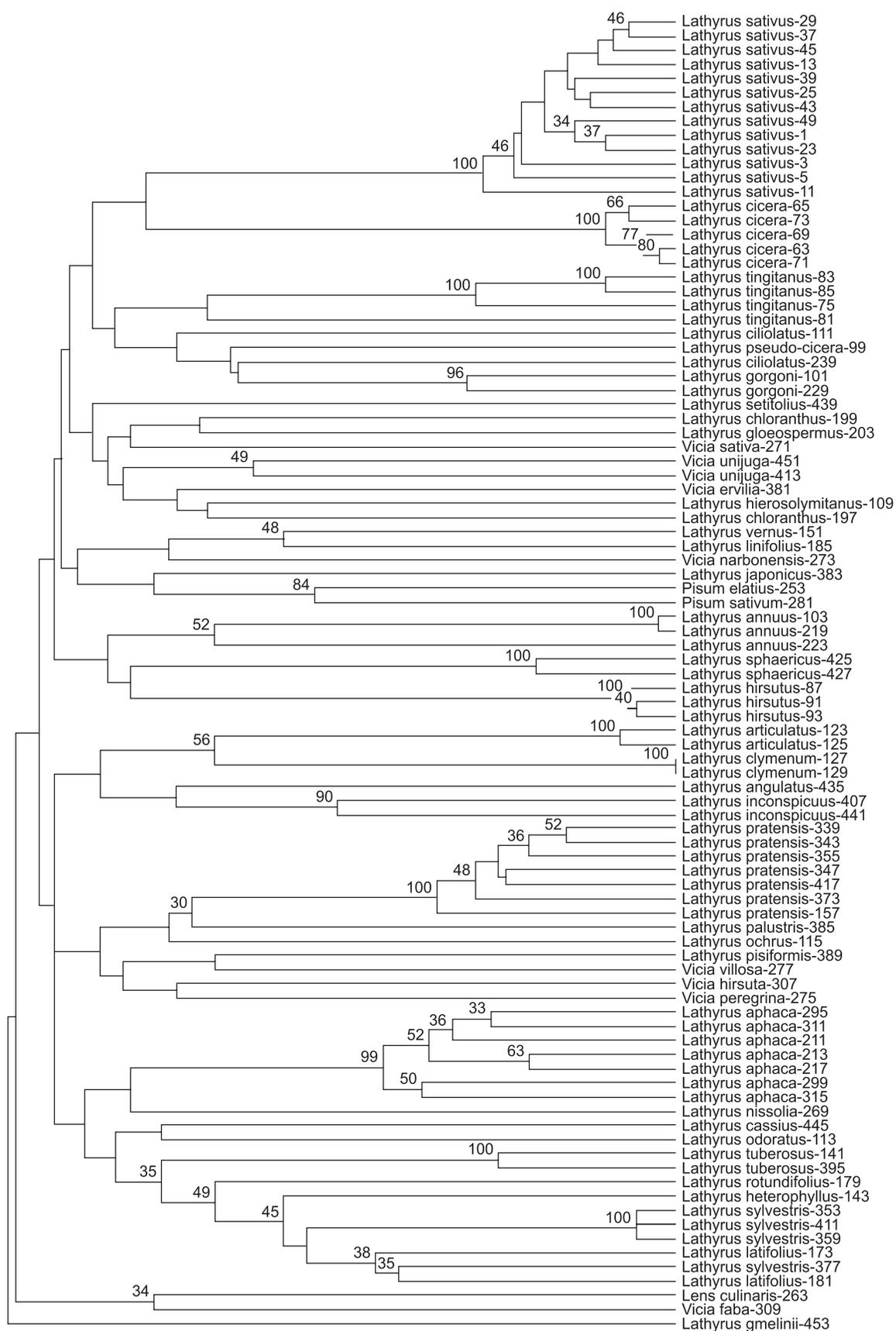


Рис. 5. Дендрограмма, полученная на основе сравнительного анализа 226 полиморфных амплифицированных RAPD фрагментов 93 представителей 38 видов рода *Lathyrus*, 2 видов *Pisum*, 1 вида *Lens*, 8 видов *Vicia*.

но позволил усомниться в их объединении (Kupicha, 1983) и встать на позиции авторов, признающих самостоятельность *L. articulatus* (Alefeld, 1861; Чефранова, 1987). Напротив, близость видов *L. japonicus* и *L. maritimus* подтверждает возможность их объединения в один вид *L. japonicus*, как это сделано в ряде классификаций (Kupicha, 1983; Чефранова, 1987 и др.) и подтверждено нами при изучении ITS-последовательностей генов рибосомной ДНК этих видов (Рыжова и др., 2007).

Виды *Pisum elatius* и *P. sativum* характеризовались бутстреп-поддержкой 84 %, что показывает их большое родство и ставит под сомнение правомерность возведения в ранг вида *P. elatius* разновидности посевного гороха *P. sativum* L. ssp. *elatius* (Bieb.) Aschers et Graebn.

Таким образом, в итоге проведенного исследования показана возможность дифференциации как отдельных образцов, так и видов чины с помощью RAPD анализа. У большинства видов межвидовые различия по компонентному составу RAPD фрагментов значительно превышали внутривидовое разнообразие. Исключение составляют только виды *L. sylvestris*, *L. latifolius*, *L. heterophyllus*, характеризующиеся самым большим разнообразием морфологических типов, имеющих обширный ареал и с давних пор используемых в культуре в качестве зерновых, кормовых и декоративных растений. Ряд образцов *L. sylvestris* по составу полиморфных фрагментов были ближе к *L. latifolius*, чем к другим образцам *L. sylvestris*. Часть образцов данных видов трудно распознать как по морфологическим, так и по молекулярным данным. Нечеткие границы этих двух видов, видимо, связаны с возможностью переопыления и возникновением гибридов.

Полиморфные RAPD праймеры пригодны для дифференциации образцов чины большинства видов и могут быть использованы при поиске дублетов в коллекциях растительных ресурсов. Мономорфные, специфические и воспроизводимые RAPD фрагменты представителей рода *Lathyrus* могут быть использованы в качестве маркеров некоторых видов и их секционной принадлежности, поскольку метод позволяет с определенной степенью точности выявить внутривидовую дифференциацию, приблизительно сходную с его делением на секции.

В нашем исследовании более или менее четко дифференцированными выявились группы, соответствующие секциям: *Cicerula*, *Clymenum*, *Lathyrus*, *Aphaca*, *Pratensis*, *Linearicarpus*, а также вполне дифференцированными оказались представители секций *Nissolia* (*L. nissolia*) и *Orobastrum* (*L. setifolius*). Эта дифференциация в целом соответствует используемой нами и наиболее принятой в мире системе Kupicha (1983) за исключением одного принципиального разногласия: необоснованности включения нутовидных чин *Cicerula* в секцию *Lathyrus* (Бурляева и др., 2007; Burlyaeva et al., 2007).

Сопоставление наших данных с полученными ранее фактами (Баранов, Бурляева, 1990) о строении семенной кожуры у видов рода *Lathyrus* выявило сходство в полученном авторами пространственном распределении видов и секций в системе двухфакторного анализа и в положении их в построенной нами дендрограмме. Это выразилось, в частности, в промежуточном положении секций *Nissolia* и *Clymenum* между секциями *Cicerula* и *Lathyrus*. Кроме того, в нашем исследовании со всей очевидностью также выявилась экотипическая дифференциация секций, отмеченная в цитируемой работе: мезофитные виды из рода *Lathyrus* локализованы на нижнем полюсе дендрограммы, а ксерофитные из секции *Cicerula* – на верхнем.

Выявленный нами различный уровень внутривидового разнообразия генома у видов *L. sativus*, *L. cicera*, *L. inconspicuus*, *L. sphaericus*, *L. aphaca*, *L. pratensis*, *L. sylvestris*, *L. latifolius*, *L. tuberosus* и некоторых других в сопоставлении с их фенотипическим разнообразием и агрономической ценностью может служить ценным ориентиром для использования коллекционных образцов в селекционном улучшении видов. Полученные данные о геномном полиморфизме образцов коллекции дополнили паспортные базы данных.

Следует отметить, что целый ряд вопросов о детальном статусе и объеме секций рода по-прежнему остается наиболее спорным в систематике рода *Lathyrus* и не может быть решен на основе полученных в настоящем исследовании данных.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 06-04-48869-а.

Литература

- Баранов М.П., Бурляева М.О. Анатомическое строение семенной кожуры видов рода *Lathyrus* L. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1990. Т. 135. С. 125–134.
- Бурляева М.О., Алпатъева Н.В., Рыжова Н.Н. и др. Молекулярные подходы к решению вопросов филогении и систематики рода *Lathyrus* L. // Матер. 4-й Междунар. науч. конф. «Биологическое разнообразие. Интродукция растений (5–8 июня 2007 г., С-Петербург), СПб., 2007. С. 25–26.
- Кочиева Е.З., Горюнова С.В., Поморцев А.А. Молекулярное маркирование геномов ячменей // Генетика. 2001. Т. 37. № 8. С. 1088–1094.
- Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н., Храпалова И.А., Пухальский В.А. Использование метода RAPD анализа в определении генетического полиморфизма и филогенетических связей у представителей рода *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. // Генетика. 2002. Т. 38. № 6. С. 874–880.
- Попов М.Г. Род *Cicer* и его виды. К проблеме происхождения средиземноморской флоры (Опыт морфологической и географической монографии) // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1929. Т. 21. Вып. 1. 239 с.
- Рыжова Н.Н., Бурляева М.О., Кочиева Е.А., Вишнякова М.А. Использование ITS последовательностей для оценки таксономических отношений у представителей трибы *Vicieae* (Adans.) Bronn сем. *Fabaceae* Lindl. // Экол. генетика. 2007. Т. V. Вып. 3. С. 5–14.
- Серебряков И.Г. Экологическая морфология растений. Жизненные формы покрытосеменных и хвойных. М.: Высш. шк., 1962. 387 с.
- Станкевич А.К., Репьев С.И. Культурная флора. Вика. СПб.: ВИР, 1999. 490 с.
- Чесноков Ю.В. Молекулярные маркеры и управление генетическими ресурсами растений // Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб: ВИР, 2005. С. 240–250.
- Чефранова З.В. *Lathyrus* L. // Флора европейской части СССР. Л., 1987. Т. 6. С. 147–170.
- Adanson M. Familles des plantes. Paris, 1763. № 2. P. 331–332.
- Alefeld F. Genus *Vicia* L. Bonpandia. 1861. V. 9. P. 66–199.
- Asmussen C.B., Liston A. Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae) // Amer. J. Bot. 1998. V. 85. P. 387–401.
- Badr A., El Shazly H., El Rabey H., Watson L.E. Systematic relationships in *Lathyrus* sect. *Lathyrus* (Fabaceae) based on amplified fragment polymorphism (AFLP) data // Can. J. Bot. 2002. V. 80. P. 962–969.
- Boissier E. *Vicia* L., *Lathyrus* L. // Flora Orientalis. Geneve, 1872. V. 2. P. 565–622.
- Burlyayeva M.O., Alpatieva N.V., Vishnyakova M.A., Chesnokov Yu.V. Molecular-phylogenetic study of tribe *Vicieae* (Adans.) Bronn family *Fabaceae* Lindl. // 6th Europ. Conf. on Grain Legumes, Lisbon, Portugal. 2007. P. 249.
- Croft A.M., Pang E.C.K., Taylor P.W.J. Molecular analysis of *Lathyrus sativus* L. (grass pea) and related species // Euphytica. 1999. V. 107. P. 167–176.
- Caetano-Anolles G. MAAP: a versatile and universal tool for genome analysis // Plant Mol. Biol. 1994. V. 25. P. 1011–1026.
- Edwards S.K., Johnstone C., Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analyses // Nucl. Acids Res. 1991. V. 19. № 6. P. 1349.
- Kenicer G.J., Kajita T., Pennington R.T., Murata J. Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data // Am. J. Bot. 2005. V. 97. P. 1199–1209.
- Kochieva E.Z., Ryzhova N.N., van Dooijeweert W. et al. Assessment of genetic relationships in the genus *Capsicum* using different DNA marker systems // Eucarpia. 2004. P. 44–50.
- Kupicha F.K. The infrageneric structure of *Vicia* // Notes from the Royal Botanic Garden. Edinburg, 1976. V. 34. № 3. P. 287–326.
- Kupicha F.K. The infrageneric structure of *Lathyrus* // Notes R. Bot. Gard. Edinburg, 1983. V. 41. P. 209–244.
- Linnaeus C. Genera *Vicia*, *Orobus*, *Lathyrus*, *Ervum* // Species Plantarum. Holmae, 1753. P. 728–738.
- Steele K.P., Wojciechowski M.F. Phylogenetic analysis of tribes Trifolieae and *Vicieae*, based on sequences of the plastid gene *matK* (Papilionoideae: Leguminosae) // Advances in Legume Systematics / Eds K. Klitgaard, A. Bruneau. Part 10, High Level Systematics. Royal Botanic Garden, Kew. 2003. P. 355–370.
- Willdenow K.L. Linne Species Plantarum. Berlin, 1802. Bd. 3. № 2. S. 113, 1072–1109.

**RAPD-ANALYSIS OF INTRAGENERIC
POLYMORPHISM IN *LATHYRUS* L. FROM FABACEAE LINDL.**

M.A. Vishnyakova, M.O. Burlyaeva, N.V. Alpatieva, Yu.V. Chesnokov

State Scientific Centre N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: m.vishnyakova@vir.nw.ru

Molecular polymorphism of the main genera of tribe Viciae (Fabaceae): *Lathyrus*, *Vicia*, *Lens*, *Pisum* has been studied by means of RAPD-analysis, and the level of inter- and intrageneric polymorphism has been determined. The main accent has been made on the investigation of *Lathyrus* species. The new data have been received, allowing to analyze different systems of the genus and to judge about the status of some disputable taxons, particularly, about the illegitimacy of reckoning the section *Cicercula* in the section *Lathyrus*, conjunction as one species *L. articulatus* and *L. clymenum*, and *vice versa*, possibility to consider as one species *L. japonicus* and *L. maritimus*. For the first time different level of specific genome diversity had been determined in the representatives of the species: *L. sativus*, *L. cicera*, *L. inconspicuus*, *L. sphaericus*, *L. aphaca*, *L. pratensis*, *L. sylvestris*, *L. latifolius*, *L. tuberosus* and some others. The applicability of RAPD-analysis either for species identification and for intra- and interspecific polymorphism discovery has been established. The possibility to reveal the groups of closely related species has been shown also. Nevertheless, some questions about detailed status and size of intrageneric groups of the genus are still disputable as before and can not be resolved on the basis of our data.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ВНУТРИВИДОВЫЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КУЛЬТУР ВИДА *BRASSICA RAPA* L. ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ

А.М. Артемьева¹, Ю.В. Чесноков¹, Э. Клоке²

¹ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: akme11@yandex.ru; ² Институт селекционных исследований садовых и овощных культур, Германия

Проведено изучение генетического разнообразия и внутривидовых отношений вида *Brassica rapa* L. ($2n = 20$, геном AA) при использовании для этих целей 96 образцов стержневой коллекции ВИР и метода анализа микросателлитов. С помощью 61 полиморфного маркерного фрагмента построена UPGMA дендрограмма, на которой выделяются два основных кластера. Первый кластер составили преимущественно восточноазиатские листовые овощные культуры, а второй – корнеплодная репа и все масличные культуры. На дендрограмме образцы овощных культур разделены на внутривидовые группы, включая два кластера пекинской капусты и кластеры китайской и японской капуст. Японские листовые культуры, а также гибриды между подвидами кластеризованы вместе с морфологически близкими и генеалогически родственными образцами. Используемые SSR праймеры не позволили выделить отдельные подвиды репы и масличных культур. Однако применение изученных микросателлитных маркеров вида может быть использовано в селекционных программах для дифференциации образцов восточноазиатских листовых овощных культур при поиске различных генотипов.

Ключевые слова: *Brassica rapa* L., микросателлиты, филогения, SSR маркеры, генетическое разнообразие.

Введение

Вид *Brassica rapa* L. включает экономически важные масличные, овощные и кормовые, листовые и корнеплодные культуры и широко распространен на земном шаре. Вид представлен столь огромным разнообразием форм, возникшим в ходе эволюции и domestikации, что многие внутривидовые таксоны имели в предыдущих классификациях ранг видов (Bailey, 1940; Синская, 1969). G. Olsson (1954) доказал свободную скрещиваемость видов по Bailey (1940), их общую кариологию и объединил их в один вид *Brassica rapa*. Последние классификации вида (Hanelt, 1986; Gladis, Hammer, 1992; Specht, Diederichsen, 2001) носят еще предварительный характер из-за недостаточности знаний о происхождении, становлении и внутривидовых взаимоотношениях.

Эти вопросы являются предметом исследования многих авторов, использующих различные методы от изучения древних литературных и археологических источников различных цивилизаций, сравнительной таксономии, особенностей распространения до анализа цитогенетических, биохимических, молекулярных данных (Song *et al.*, 1988; Gomez-Campo, 1999; Specht, Diederichsen, 2001; Игнатов, 2006).

По современным воззрениям, вид *B. rapa* ($2n = 20$, геном AA) произошел относительно недавно от вида *B. oleracea* ($2n = 18$, геном CC) в районе восточного Средиземноморья (Балканы и Малая Азия) и явился первым domestikцированным видом рода *Brassica* (Gomez-Campo, 1999). Вид разделен на западную евразийскую ветвь (*ssp. rapa, oleifera, dichotoma, trilocularis*), главным образом включающую корнеплодные и масличные культуры Европы, Центральной Азии и Ин-

дии, и восточноазиатскую ветвь (*ssp. chinensis*, *pekinensis*, *nipposinica*), включающую в основном овощные культуры. По С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001), западная группа – предковая, масличные культуры представляются более примитивными таксонами, и domestикация *ssp. oleifera* могла произойти в Юго-Западной Азии. При этом озимая сурепица (*ssp. oleifera biennis*) может быть предком репы (*ssp. rapa*). Сорные формы (*ssp. sylvestris* (Lam.) Janchen) не могут быть разделены таксономически из-за их ясного сходства с летней сурепицей (*ssp. oleifera annua*).

В то же время I.H. Burkill (1930) рассматривал Европу как место первой domestикации *B. rapa* в качестве двулетнего растения, от которого произошли в результате селекции однолетние формы (по: Gomez-Campo, 1999). А.Н. Игнатов (Персональное сообщение) предполагает, что первой domesticiрованной культурой вида была двулетняя корнеплодная репа Западной и Центральной Азии, откуда она распространилась на запад в Европу и на восток двумя волнами в южный и северный Китай. Эта идея ассоциируется с наблюдениями Е.Н. Синской (1928), которая описала 7 эколого-географических групп репы и предположила, что афганский тип явился предковой формой культивируемых *B. rapa*. Н. Reineg с соавт. (1995) соглашаются, что в Европе использование корнеплодного типа *B. rapa* очень древнее, это растение было прямо domesticiровано из дикого предка и позже дало начало европейским масличным культурам вида. Индийские масличные подвиды могли быть domesticiрованы независимо (Синская, 1928) или произошли от западной популяции (Gomez-Campo, 1999). По С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001), индийские масличные культуры коричневого сарсон (старейшая масличная культура Индии) и тория объединены, но это предложение не принято единодушно. Желтый сарсон, единственная самосовместимая культура в виде, однозначно происходит от *ssp. dichotoma*.

Восточная ветвь вида *B. rapa* развилась предположительно из масличных форм (Gomez-Campo, 1999), корнеплодной репы (Игнатов, 2006) или обеих этих форм (Takuno *et al.*, 2007) в Китае, а затем в Корее и Японии. Диверсификация здесь связана со специализацией по способу и сезону использования в различных климатических регионах. Китайская капуста

пак-чой (*ssp. chinensis*) была первой листовой (черешковой) овощной культурой, возникшей в Центральном Китае (Li, 1982). Ее древность подтверждается широким морфологическим разнообразием и высоким уровнем полиморфизма ДНК (Gomez-Campo, 1999). История и происхождение пекинской капусты *B. rapa ssp. pekinensis* – самой широко распространенной восточноазиатской овощной культуры вида – хорошо документированы (Li, 1982).

Н. Тохореус с соавт. (1997) разделили культуры вида по хозяйственному использованию на овощные, кормовой и масличные типы. Однако, по нашему мнению, такое деление не является основанием для таксономических построений, в том числе потому, что существуют культуры двойного использования: например, некоторые формы при весеннем посеве в Китае используются для получения масла, а при летне-осеннем – овощной продукции, листьев или корнеплодов. Представляется логичным создание внутривидовой классификации на основании филогенетического родства. Заслуживает внимания предложение А.Н. Игнатова (2006) объединить некоторые подвиды в китайскую и японскую группы.

Мировая коллекция вида *B. rapa* России, хранящаяся во ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, включает 327 образцов масличных культур, 525 образцов шести листовых овощных культур и 406 образцов корнеплодной репы. В результате многолетнего изучения этой коллекции в различных эколого-географических зонах страны в ВИР были описаны группы сортов (форм), различающихся по комплексу биологических признаков (Синская, 1928; Шебалина, 1974; Шебалина, Сазонова, 1985; Артемьева, 1999, 2001, 2004). В пределах каждой группы выделены сортоотличия – группы сортообразцов с близкими морфологическими, физиологическими, биохимическими и хозяйственно важными признаками. Эта работа послужила первым подходом к созданию стержневой коллекции вида.

Для изучения генетического разнообразия и генетических взаимоотношений в роде *Brassica* широко используются молекулярные маркеры (см. обзор Snowdon, Friedt, 2004). Генетическое разнообразие вида *B. rapa* интенсивно изучалось молекулярно-биологическими методами

(Song *et al.*, 1988, 1990; Zhao *et al.*, 2005; Ling *et al.*, 2007; Takuno *et al.*, 2007; Warwick *et al.*, 2007). В целом в работах отмечена тенденция к группировке образцов в соответствии с географическим происхождением в европейскую, индийскую (или одну евразийскую) и восточноазиатскую группы.

Цель настоящей работы – изучение генетического разнообразия и попытка уточнения внутривидовой классификации *B. rapa* посредством анализа микросателлитов геномов представителей вида из коллекции ВИР, в том числе установление отличимости подвидов/разновидностей и расположения гибридных форм на филогенетическом древе.

Материал и методы

Растительный материал. Стержневая коллекция, отражающая ботаническое разнообразие вида *B. rapa*, включала 96 местных и селекционных образцов различного происхождения (табл. 1). Таксономическое деление дано по С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001) за исключением выделения *ssp. sylvestris* (Lam.) Janchen в отдельный от *ssp. oleifera* подвид.

Выделение ДНК. ДНК экстрагировали из молодых листьев по методике Д.Б. Дорохова и Э. Клоке (1997). Для совокупного гетерогенного анализа ДНК использовали 5 растений каждого образца. 5 растений каждого образца могут представляться не вполне достаточным для оценки разнообразия среди сортов-популяций перекрестноопыляющихся культур вида. Однако мы опирались на результаты, полученные S. Warwick с соавт. (2007) и S. Takuno с соавт. (2007), которые сравнивали количество фрагментов на электрофореграммах при использовании совокупности из 5 растений и набора индивидуальных растений одного и того же образца. Их данные свидетельствуют о том, что 95 % фрагментов были общими. Кроме того, целью работы было изучение разнообразия внутри целого вида, члены которого сильно различаются по морфологическим и биологическим особенностям, происхождению и использованию, и мы допустили, что ошибка от потери некоторых редких аллелей была общей по коллекции и не сыграла существенной роли в определении взаимоотношений между отдельными образцами.

SSR (Simple Sequence Repeats) анализ ДНК.

Для анализа ДНК использовали 10 олигонуклеотидных пар праймеров (табл. 2), созданных в Китае Ma Rongcai (Персональное сообщение, неопубл. данные) и отобранных ранее для определения полиморфизма среди образцов пекинской капусты. В задачу наших исследований входило также установление возможности применения этого набора праймеров для анализа разнообразия других подвидов вида.

ПЦР проводили по методике, разработанной в лаборатории селекции растений Университета Вагенингена (Нидерланды), руководитель д-р А.В. Vonpema (Персональное сообщение). В смесь конечным объемом 12,5 мкл добавляли: 10 х инкубационный буфер (1,25 мкл), 0,25 мкл каждого dNTP (10 мМ), по 0,25 мкл каждого праймера (10 пикомоль/мкл), 0,1 мкл Taq ДНК-полимеразы (5 ед/мкл) (Qbiogene, Германия) и 20 нг геномной ДНК.

Аmplификацию осуществляли в ДНК амплификаторе (BioRad, Германия), запрограммированном на 42 цикла: 1 – первичная денатурация при 94 °С 3 мин (1 цикл), 2 – денатурация при 94 °С 1 мин, отжиг праймеров при использовании touch-down с 65 °С до 56 °С по 1 мин, элонгация при 72 °С 1,5 мин (10 циклов), 3 – 94 °С 1 мин, отжиг при 55 °С 1 мин, 72 °С 1,5 мин (30 циклов), 4 – 72 °С 5 мин (1 цикл). Финальная температура – 4 °С.

Для электрофореза в ПААГ (8%) использовали автоматизированный секвенатор Li-Cor 4200 (Biosciences, Линкольн, Небраска, США), для визуализации и документации полученных данных использовали программу GeneIR для Li-Cor.

Обработка экспериментальных данных. При оценке данных использовали маркерные фрагменты размером от 100 до 300 пн, которые были рассмотрены как кодоминантные и описаны при построении бинарной матрицы как (1) при присутствии и (0) при отсутствии с использованием программы Gene Profiler 4.05 Windows, Genotyping and DNA Fragment Analysis software (Scanalytics Inc., США).

Коэффициенты (индексы) подобия рассчитывали с использованием генетической дистанции по R.R. Sokal и C.D. Michener (1958) (Simple matching). Кластерный анализ выполнен методом UPGMA с использованием программы TREECON для Windows (версия

Таблица 1

Список проанализированных образцов вида *Brassica rapa* L.

Подвид/ разновидность	Сортотип	№ кат. ВИР	№ на ден- дрограмме	Название образца	Происхож- дение
<i>ssp. pekinensis</i> (Lour.) Hanelt – пекинская капуста	Дунганская	139	001	Дунганская	Казахстан
	Сяо	53	008	Местный	Казахстан
		74	009	Сяо-бай-коу	Китай
		89	010	Доу-образная раннеспелая	Китай
		100	011	Nikoshima spring	Япония
		238	007	Nagoya Market	Япония
		58	012	Би-це	Киргизия
		210	013	KiribaSanto	Япония
		108	014	Местный	Китай
		132	017	Kasin	Япония
		247	018	Хасинбечу	Корея
	Чосен	122	020	Лен-син-дзон	Китай
		207	021	Chosen	Япония
	Аити	63	022	Местный	Китай
		131	023	Aichi	Япония
	Нозаки	111	025	Nozaki early	Япония
		327	026	Nozaki Harumaki	Япония
	Кага	103	028	Kaga	Япония
		88	029	Цзюй-син-бао-тоу-бай-цай	Китай
	Хоторен	127	030	Hotoren	Япония
	Чи-фу	48	031	Wong-Bok	Нидерланды
		110	033	Matsushima	Япония
	Кенсин	222	034	Kensin	Япония
	Гранат	164	036	Michihli	Канада
71		038	Хэ-тоу-вень	Китай	
Да-цин-коу	56	039	Да-цин-коу	Китай	
	128	040	Цжжита	Япония	
	198	041	Местный	Китай	
<i>ssp. chinensis</i> (L.) Hanelt – китайская капуста	Пиорбай	75	042	Пиорбай	Китай
	Сьюсман	77	043	Сьюсман	Китай
		Вр.930	044	Майская 8	Китай
	Тайсай	46	045	Тайна	Россия
	Ю-тсай (var.utilis)	106	046	Янцай	Китай
		195	048	Местный	Китай
203	049	Ching Pang Ju Tsai	Китай		
<i>var. rosularis</i> (Tsen & Lee) Hanelt – розеточная капуста	Та-гу-цай	84	050	Хэ-ю-та-цай	Китай
		129	051	Та-гу-цай	Китай

Продолжение таблицы 1

Подвид/ разновидность	Сортотип	№ кат. ВИР	№ на ден- дрограмме	Название образца	Происхож- дение
<i>var. narinosa</i> (Bailey) Hanelt – широконосная капуста	Хризантемум	154	052	Chrysanthemum heart	Китай
		213	053	Bitamin na	Япония
<i>var. purpuraria</i> (Bailey) Bailey – пурпурная капуста		391	054	Xing Yang	Китай
<i>ssp. nipposinica</i> (Bailey) Hanelt – японская капуста	Мибуна	115	055	Mibuna	Япония
	Мизуна	159	056	Mizuna	Япония
		241	057	Shiroguki Kyona	Япония
<i>ssp. rapa</i> L. f. <i>Komatsuna</i> – листовая репа	Комацуна	215	059	Uzuki Komatsuna	Япония
		242	060	Goseki Late	Япония
	Куроха	264	061	Kuroha	Япония
Японские листовые овощи	Мана	372	002	Bansei Mana	Япония
	Сирона	98	003	Osaka Market	Япония
		217	004	Okute Osaka Shirona	Япония
	Хиросимана	335	005	Hiroshimana	Япония
Стабильные гибриды между подвидами		96	063	Шантай	Китай
		302	064	Гурин Дэбюу	Япония
		331	065	White Long Petiole	Япония
		436	066	Benrina	Япония
<i>ssp. rapa</i> L. – репа	Китайский	163	058	Местный	Китай
	Остерзундомский	307	097	Остерзундомский	Россия
	Бортфельдский	385	098	Бортфельдский	Украина
	Карельская	738	099	Карельская	Россия
	Гробовская	821	100	Гробовская	Россия
	Миланская белая	826	101	Миланская белая	Россия
	Петровская	830	102	Петровская	Россия
	Тельтовский	894	103	Тельтовская	Германия
	Норфолькский фиолетовоголовый	984	104	Норфолькский	Франция
	Волынский	1050	105	Волынский	Украина
Золотой шар	1283	106	Золотой шар	Нидерланды	
<i>ssp. oleifera</i> (DC.) Metzger f. <i>annua</i> – сурепица яровая		68	062	Местный	Китай
		1	067	Kun Min ai u-zai	Китай
		2	068	Hue Zin u-zai	Китай
		11	069	Gute	Финляндия
		13	070	Местный	Аргентина
		25	071	Zsjan Su U uan-uzai 5082	Китай
		63	073	Pahsi	Индия
		106	075	Lotni mustard	Индия

Окончание таблицы 1

Подвид/ разновидность	Сортотип	№ кат. ВИР	№ на ден- дрограмме	Название образца	Происхож- дение
<i>ssp. oleifera</i> (DC.) Metzger f. <i>annua</i> – сурепица яровая		108	076	Arlo	Швеция
		114	077	Local (tetraploid)	Пакистан
		163	081	LGL	Пакистан
		192	085	Mustard	Непал
		248	088	Local	Испания
		251	089	Vat-cawte	Танзания
		301	091	BHLS	Непал
		339	095	Jui-cai-tai	Китай
	374	096	Local 88/47	Бутан	
<i>ssp. oleifera</i> (DC.) Metzger f. <i>biennis</i> – сурепица озимая		166	082	Root mustard	Тунис
		337	093	U-zai-zsi	Китай
<i>ssp. dichotoma</i> (Roxb.) Hanelt – коричневый сар- сон и тория		53	072	Local toria	Индия
		100	074	Local	Непал
		135	079	Ds 17	Индия
		161	080	Toria selection	Пакистан
		205	086	Sarson	Пакистан
<i>ssp. trilocularis</i> (Roxb.) Hanelt – желтый сарсон		131	078	Type 1	Индия
		188	083	Palton sarson 66	Индия
		299	090	Sangam	Индия
		338	094	Chen-du-ai-u-zai	Китай
<i>ssp. sylvestris</i> (Lam.) Janchen – дикая сурепица		176	084		Италия
		218	087	Nabo silvestre	Перу

1.36). Для оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 100 повторностей.

Результаты

Изучение показало достаточно высокий уровень полиморфизма между членами вида: с 10 парами праймеров наблюдали 61 полиморфный SSR фрагмент (табл. 2). Размер амплифицированных фрагментов находился в пределах от 146 до 297 п.н. Отмечены региональные различия уровня генетического разнообразия: число ампликонов, продуцируемых различными праймерами, варьировало от 4 до 10 для масличных культур и европейской репы и от 2 до 8 для восточноазиатских листовых овощных культур, и уровень полиморфизма восточноазиатской

группы составил 82 % от уровня полиморфизма евразийской группы.

На рис. 1 представлена дендрограмма, построенная для всех 96 изученных образцов по результатам анализа микросателлитов при использовании метода расчета генетической дистанции Simple matching. Образцы на дендрограмме сгруппированы в два большие кластера, несколько образцов находятся за пределами кластеров, и образец европейской репы сортотипа Карельская (099 на дендрограмме) занимает позицию out-group.

Первый большой кластер включает подавляющее большинство образцов пекинской и китайской капусты, два образца розеточной капусты, стабильные гибриды между подвидами и все японские листовые овощные культуры. При этом гибрид с пекинской капустой в качестве

Таблица 2

Полиморфные EST-SSR локусы и образованные на их основе последовательности праймеров, местоположение маркеров в группах сцепления, размеры ампликонов, число аллелей, продуцированных каждым праймером

Название локуса	Мотив	Праймеры (прямой, обратный)	Местоположение SSR маркера в группах сцепления	Ожидаемый размер ампликона, п.н.	Наблюдаемый размер ампликона, п.н.	Число аллелей	
						Масличные, европейская репа	Восточно-азиатские культуры
BC7	(ACC) ₆	AGTTGGCCCCCAATTTCATTGTTAT CATCTTGACGGCCTCCCATCTCCA	R01	153	147–179 (основной 153)	10	8
BC38	(ATC) ₇ ...(AAG) ₅	CTTTTGGTGCCTCCGACGAGA AAGGAAAGCAGGAAAGAGATAAAAAG	R03	198	184–203 (основной 200)	6	6
BC46	(GAA) ₆	AGGTTTCGAGGTTTGTGGCTTCT СТАААСТСАТСГТТССГТАААСА	R01	184	177–212 (основной 181)	6	2
BC48	(TCT) ₇	GGTGGTGGGCTGGGGAGTA CGTTCGATCGATTCAATAACCGTAGA	R02	237	230–251	4	6
BC51	(GAA) ₆	CCGAGGAAGAAAGCTGTTGAGTTG ATCGCTTCCGТАGACACCTTCGTT	R06	154	146–154 (основной 151)	4	2
BC63	(AG) ₉	TTCGGTCCCTTCCCTAAАСА GAACACТАCTGCCСAGAGAACAC	R03	202	189–207 (основной 198)	7	4
BC65	(AG) ₇	TCCCGTCCCTTCCCTAAАСА TGAACACTACTGCCСAGAGAACAC	R04	200	189–207 (основной 200)	5	4
BC89	(AG) ₇	CGTCCGTAGCGCTAТТТТCAGA ACGTTGTCGATCGCCСAGTTC	R06	199	182–250	9	9
BC105	(CT) ₇	GACGCCCTCAATTGCTTACTT AGGGAATGAGGATGGGTCTG	R05	212	207–214 (основной 207)	4	3
BC107	(TC) ₁₀	ATACAATCTCTGTGACTCTACAG AGCATCAAGGCCAАCTTTATCC	R09	204	284–297 (основной 295)	6	6

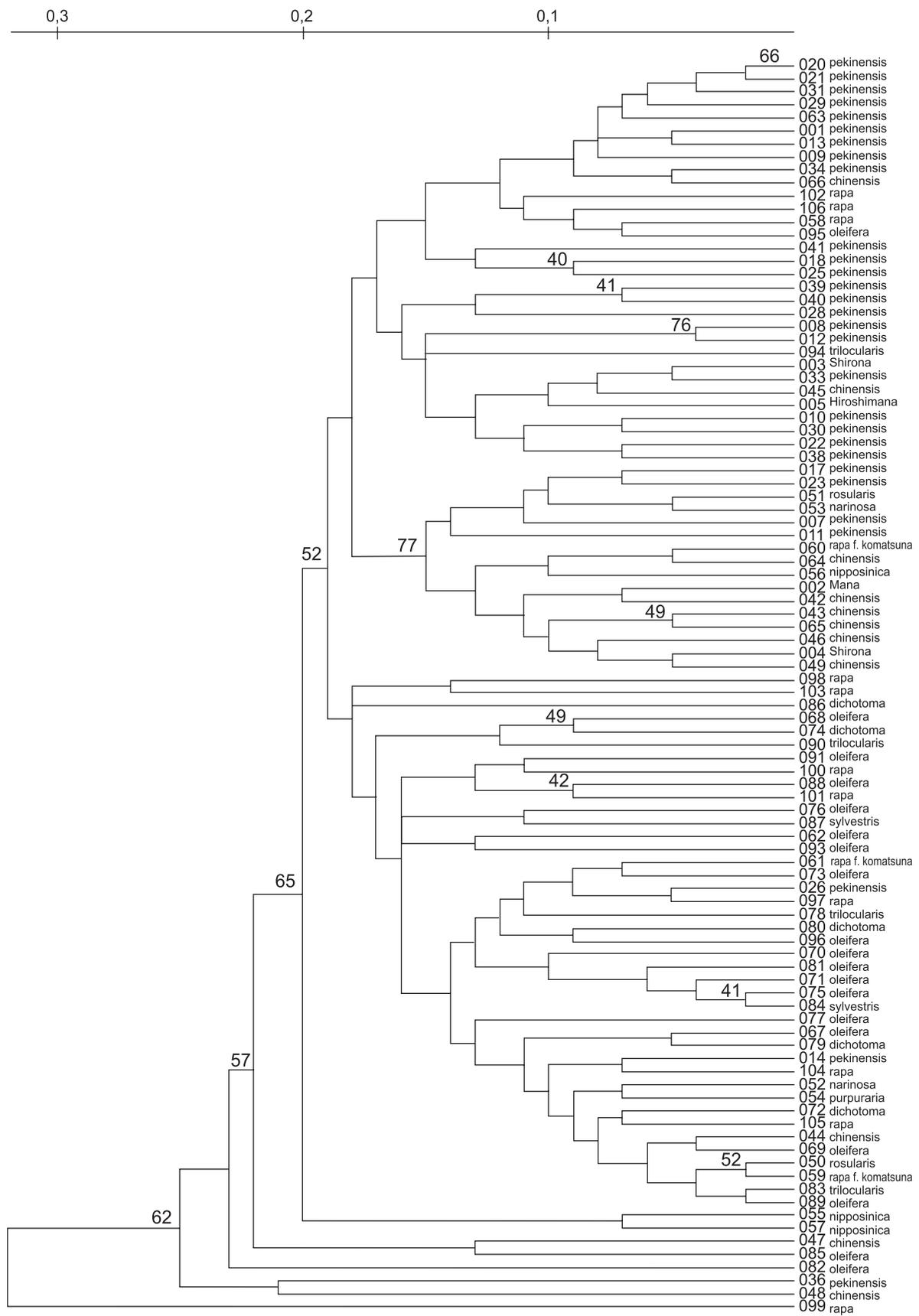


Рис. 1. UPGMA дендрограмма образцов вида *Brassica rapa*.
Пояснения в табл. 1 и в тексте. Шкала показывает генетическую дистанцию.

одного родителя вошел с ней в один подкластер, а гибриды между китайской капустой и розеточной капустой – в подкластер китайской капусты. Один из образцов японских листовых овощей Хиросимана (005) и один из образцов Сирана (Osaka Market, 003), у которых морфологические признаки пекинской капусты преобладают, находятся в одном кластере с ней, в то время как формы Мана (002), Осака Сирана (004) и Хиросимана (007) – с китайской капустой. Также в подкластер китайской капусты входят один из образцов японской капусты (056), листовая японская репы (060) и два образца розеточной (*rosularis* и *narinosa*) капусты (051 и 053).

Среди образцов пекинской капусты очень близки генетически оказались сорта сорто-типа Чосен и Да-цин-коу из Китая и Японии (соответственно 020 и 021 и 039 и 040), сорта сортотипов Касин и Нозаки из Кореи и Японии (018 и 025), сорта сортотипов Сяо и Санто из Казахстана и Киргизии (008 и 012). В двух последних случаях сорта относятся к разным, но генеалогически родственным сортотипам.

Во втором большом кластере дендрограммы находятся преимущественно образцы масличных культур *ssp. oleifera*, *dichotoma*, *trilocularis*, а также *ssp. sylvestris* за исключением двух образцов, вошедших в кластер восточноазиатских листовых культур. По результатам анализа оказалось невозможным разделить масличные культуры по ботаническим подвидам. Также в этом кластере находится большинство образцов корнеплодной репы за исключением трех образцов, вошедших в первый кластер, и образца out-group. При этом образцы корнеплодной репы не только не образовали отдельного кластера, но оказались распределены достаточно равномерно между несколькими кластерами. Отдельный небольшой кластер образовали два из трех образцов японской капусты *ssp. nipposinica* (055, 057).

Внутри больших кластеров наблюдали близкие значения разнообразия – коэффициенты подобия 0,83. Несколько дальше отстоит от них кластер японской капусты (0,80). Образец out-group имеет коэффициент подобия 0,67.

Обсуждение

Полиморфные EST-SSR локусы, выбранные для создания использованных в настоящей

работе праймеров, находятся в 7 из 10 группах сцепления – R01, R02, R03, R04, R05, R06 и R09 *B. rapa*.

Все маркерные фрагменты с ожидаемым или близким к нему размером отмечены у большинства членов вида. Различия между большими группами образцов по данному маркеру связаны главным образом с появлением редких аллелей в группе масличных культур и европейской репы, а также с различной частотой встречаемости общих для вида аллелей с отличной от ожидаемой молекулярной массой амплифицированных фрагментов. Не найдены аллели, которые были бы специфичны для ботанических подвигов. Это совпадает с данными J. Ren с соавт. (1995), которые не нашли RAPD фрагментов, позволяющих различать подвиды *B. rapa*.

Распределение образцов вида *B. rapa* в два больших кластера по результатам SSR анализа (см. рис. 1) сходно с результатами, полученными J. Zhao с соавт. (2005), S. Takuno с соавт. (2007) и S. Warwick с соавт. (2007), проанализировавшими методом AFLP коллекции Нидерландов, Китая и Канады, в которых европейские и индийские образцы в целом группируются отдельно от азиатских образцов. Однако в предшествующих исследованиях выявлялся более высокий уровень разнообразия азиатских культур по сравнению с европейскими, отсутствовало четкое разделение на подвиды, а также распределение образцов китайской капусты в несколько кластеров. В нашей работе образцы китайской капусты и гибриды с ней образовали свой подкластер, за исключением 4 образцов, распределенных в подкластер с пекинской капустой, с масличными культурами и за пределами кластеров, что подтверждает участие китайской капусты в происхождении других культур.

Два образца *var. rosularis* и *var. narinosa* группировались рядом друг с другом и вошли в подкластер китайской капусты, другой образец *var. narinosa* сгруппирован с образцом *var. purpuraria*, китайской овощной культуры, ограниченно выращиваемой в районах Пекина и Нанкина (052 и 054), что свидетельствует о близости этих форм и правомерности включения их в *ssp. chinensis*, как предложили С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001).

Образцы пекинской капусты сформировали два подкластера, что может говорить о

различном/множественном и/или гибридном происхождении этого подвида. Наши данные согласуются с результатами К.М. Song с соавт. (1988) и S. Warwick с соавт. (2007), у которых пекинская капуста также была разделена на две группы. В работе выявлены сильно отличающиеся от других сортотипы пекинской капусты Чосен и Да-цин-коу, что соответствует их морфологическим отличиям, а также близкие сортотипы. Вхождение трех образцов пекинской капусты в подкластер китайской капусты может быть связано с общим происхождением *ssp. pekinensis* и *ssp. chinensis*. Японские листовые овощи с неясным таксономическим положением, возникшие путем множественной гибридизации в районе Киото, в наших исследованиях расположены на дендрограмме в соответствии с морфологической близостью к пекинской или китайской капусте.

Два из трех образцов японской капусты *ssp. nipposinica* сформировали отдельный кластер, третий образец вошел в подкластер китайской капусты и расположен рядом с японскими листовыми овощами. Существует несколько гипотез происхождения *ssp. nipposinica*. Так, А.Н. Игнатов (2006) говорит о происхождении японской капусты из японской репы; китайские исследователи предполагают гибридизацию *B. rapa* с неизвестным видом (Сао, 1997). Отдельное положение японской капусты, выявленное в нашей работе, а также в исследованиях S. Warwick с соавт. (2007) и S. Takuno с соавт. (2007), скорее, поддерживает последнее предположение.

Группировка европейских образцов различных подвидов в один кластер в наших исследованиях подтверждает тесные взаимоотношения *ssp. rapa* и *ssp. oleifera*, как об этом сообщали по результатам морфологических исследований, RFLP, AFLP и изоферментного анализа (Синская, 1928; Prakash, Hinata, 1980; Song *et al.*, 1988; McGrath, Quiros, 1992; Takuno *et al.*, 2007; Warwick *et al.*, 2007).

S. Warwick с коллегами (2007) подтвердила отдельное положение части изученных образцов индийских масличных культур *ssp. trilocularis* и *ssp. dichotoma* от европейской сурепицы *ssp. oleifera*. При этом в отличие от упомянутых ранее исследований в работе S. Warwick с соавт. (2007) индийские культуры не связаны общим происхождением с европейской *ssp. oleifera*.

В наших исследованиях масличные культуры образовали свой большой кластер независимо от их происхождения за исключением двух образцов из Китая в кластере с азиатскими овощными культурами и двух образцов за пределами кластеров. Такое положение образцов на дендрограмме может говорить об общности их происхождения. В работе S. Takuno с соавт. (2007) масличные культуры также образуют общий кластер и не делятся на ботанические подвиды. Авторы объясняют это очень быстрой дивергенцией, предшествующей фиксации аллелей в каждом образце, что в свою очередь выражается в нарушении ожидаемого положения образцов на дендрограмме.

С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001) считают, что китайская растительная форма двойного использования *var. chinoleifera* (по классификации китайских ботаников *ssp. chinensis var. utilis* Tsen et Lee) (Tsen, Lee, 1942) близка индийским масличным. Китайские исследователи (He *et al.*, 2003) считают, что первым типом *B. rapa* (*syn. campestris*) на территории Китая был зимний масличный тип, который дал начало весеннему типу и позже овощным полужимним формам. Таким образом, расположение большинства китайских масличных культур среди образцов евразийской группы, а двух из них среди образцов восточноазиатского происхождения вполне ожидаемо. В исследованиях S. Takuno с соавт. (2007) также образцы *ssp. rapa* и *ssp. oleifera* из Восточной Азии были близки азиатским листовым овощным.

Два диких/сорных образца *ssp. sylvestris* независимо от их происхождения (Италия и Перу) расположены на дендрограмме среди образцов *ssp. oleifera*, подтверждая мнение С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001) о невозможности отделить их от масличной сурепицы. Также представляется трудным отделить дикие от сегетальных и рудеральных форм, так что вопрос о положении *ssp. sylvestris*, по нашему мнению, по-прежнему остается открытым.

Распределение образцов корнеплодной репы между кластерами, по-видимому, свидетельствует об их высокой вариабельности. Следует отметить, что местный образец северокитайской репы (к-163, на дендрограмме 058) находится в одном кластере с пекинской капустой, что может косвенно свидетельствовать о происхождении

пекинской капусты от подобной репы. Образец репы Карельская (к-738, Россия) выделился наличием редких аллелей в электрофоретическом спектре и занял позицию out-group. Е.Н. Синская (1928) писала про образцы репы этого сортотипа, что это «заходящая форма», занимающая промежуточное положение между географическими группами, которая по признакам корня принадлежит к западноевропейской группе сортотипов (по Синской (1928), разновидностей), а по признакам листьев – к русской. Видимо, этим и объясняется отдельное положение образца.

Таким образом, использование SSR анализа позволило разделить изученную коллекцию вида *B. rapa* ВИР на внутривидовые группы, в основном соответствующие эволюционному развитию вида и в отношении филогенетического положения восточноазиатских культур, – последней ботанической классификации С.Е. Specht и А. Diederichsen (2001). Использованный в работе набор микросателлитных маркеров может быть эффективен для дифференциации образцов восточноазиатских овощных культур.

Работа выполнена в рамках российско-немецкого проекта 1/07 «Использование молекулярных маркеров для оценки генетических ресурсов растений».

Литература

- Артемьева А.М. Листовые овощные растения вида *Brassica rapa* L. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1999. Т. 157. С. 55–66.
- Артемьева А.М. Экологическая дифференциация капусты пекинской *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson // Генетические коллекции овощных растений: Сб. статей. СПб, 2001. Ч. 3. С. 148–166.
- Артемьева А.М. Доноры и источники для селекции листовых овощных культур вида *Brassica rapa* L. (Пекинская, китайская и японская капусты, листовая репа) // Каталог мировой коллекции ВИР. СПб, 2004. Вып. 740. 132 с.
- Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов // Генетика. 1997. Т. 33. № 4. С. 358–365.
- Игнатов А.Н. Генетическое разнообразие фитопатогенных ксантомонад вида *Xanthomonas campestris* и устойчивость к ним растений семейства Brassicaceae: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 2006. 350 с.
- Синская Е.Н. Масличные и корнеплоды семейства Cruciferae // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1928. Т. 19. Вып. 3. 648 с.
- Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры. Л.: Наука, 1969. 480 с.
- Шебалина М.А. Репа, турнепс и брюква. Л.: Колос, 1974. 352 с.
- Шебалина М.А., Сазонова Л.В. Корнеплодные растения. Культурная флора СССР. Л.: Колос, 1985. 325 с.
- Bailey L.H. The cultivated Brassicas // Genets Herbarum. 1940. V. 4. № 9. P. 319–330.
- Cao J., Cao S., Miao Y., Lu G. Cladistic operational analysis and study on the evolution of chinese cabbage groups (*B. campestris* L.) // Acta Horticulturae Sinica. 1997. V. 24. № 1. P. 35–42.
- He Y.T., Chen B.Y., Fu T.D. *et al.* Origin and evolution of *Brassica campestris* L. in China // Acta Genetica Sinica. 2003. V. 30. № 11. P. 1003–1012.
- Gladis T.H., Hammer K. Die Gaterslebener *Brassica*-Kollektion – *Brassica juncea*, *B. napus*, *B. nigra* und *B. rapa* // Feddes Reportium. 1992. V. 103. P. 469–507.
- Gomez-Campo C., Prakash S. Origin and domestication // Biology of *Brassica* coenospecies / Ed. C. Gomez-Campo. Amsterdam-Lausanne-New-York-Shannon-Singapore-Tokyo: Elsevier Press, 1999. P. 33–58.
- Hanelt P. *Cruciferae* // Rudolf Mansfelds Verzeichnis landwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturpflanzen (ohne Zierpflanzen) / Ed. J. Schultze-Motel. Berlin: Akademie-Verlag, 1986. P. 272–332.
- Li C.W. The origin, evolution, taxonomy and hybridization of Chinese cabbage // Chinese cabbage. Proc. 1st Intern. AVRDS Symposium. Taiwan, 1981. 1982. P. 3–10.
- Ling A.E., Kaur J., Burgess B. *et al.* Characterization of simple sequence repeat markers derived in silico from *Brassica rapa* bacterial artificial chromosome sequences and their application in *Brassica napus* // Mol. Ecol. Notes. 2007. V. 7. P. 273–277.
- McGrath J.M., Quiros C.F. Genetic diversity at isozyme and RFLP loci in *Brassica campestris* as related to crop type and geographical origin // Theor. Appl. Genet. 1992. V. 83. P. 783–790.
- Olsson G. Crosses within the campestris group of the genus *Brassica* // Hereditas. 1954. V. 40. P. 398–418.
- Prakash S., Hinata K. Taxonomy, cytogenetics and origin of crop *Brassica*, a review // Opera Bot. 1980. V. 55. P. 1–57.
- Reiner H., Holzner W., Ebermann R. The development of turnip-rape *Brassica rapa* crops from the wild type in Europe – an overview of botanical, historical and linguistic facts // Rapeseed today and tomorrow. 9th Intern. Rapeseed Congress (Cambridge. UK. 4–7 July 1995). 1995. V. 4. P. 1066–1069.

- Ren J., McFerson J.R., Li R. *et al.* Identities and relationships among Chinese vegetable brassicas as determined by Random Amplified Polymorphic DNA markers // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1995. V. 120. P. 548–555.
- Snowdon R.J., Friedt W. Molecular markers in *Brassica* oilseed breeding: current status and future possibilities // *Plant Breeding*. 2004. V. 123. P. 1–8.
- Sokal R.R., Michener C.D. A statistical method for evaluating systematic relationships // *Univ. Kans. Sci. Bull.* 1958. V. 38. P. 1409–1438.
- Song K.M., Osborn T.C., Williams P.H. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). 2. Preliminary analysis of subspecies within *B. rapa* (syn. *campestris*) and *B. oleracea* // *Theor. Appl. Genet.* 1988. V. 76. P. 593–600.
- Song K.M., Osborn T.C., Williams P.H. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). 3. Genome relationships in *Brassica* and related genera and the origin of *B. oleracea* and *B. rapa* syn. *campestris* // *Theor. Appl. Genet.* 1990. V. 79. № 4. P. 497–506.
- Specht C.E., Diederichsen A. *Brassica* // *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops* / Ed. P. Hanelt. Berlin: Springer-Verlag, 2001. V. 3. P. 1435–1465.
- Takuno S., Kawahara T., Ohnishi O. Phylogenetic relationships among cultivated types of *Brassica rapa* L. em. Metzg. As revealed by AFLP analysis // *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2007. V. 54. P. 279–285.
- Toxopeus H., Tamagishi H., Oost E.N. A cultivar group classification of *Brassica rapa* L., update 1987 // *Eucarpia Cruciferae Newslett.* 1987. V. 12. P. 5–6.
- Tsen M., Lee S.H. A preliminary study of Chinese cultivated brassicas // *Hortus Sinicus Bull.* 1942. V. 2. P. 1–32.
- Warwick S.I., James T., Falk K.C. AFLP-based molecular characterization of *Brassica rapa* and diversity in Canadian spring turnip rape cultivars // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2007. V. 6. № 1. P. 11–21.
- Zhao J., Wang X., Deng B. *et al.* Genetic relationships within *Brassica rapa* inferred from AFLP fingerprints // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 10. P. 1301–1314.

GENETIC DIVERSITY AND INTRASPECIFIC PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *BRASSICA RAPA* L. SPECIES CROPS BASED ON MICROSATELLITE ANALYSIS

A.M. Artemyeva¹, Yu.V. Chesnokov¹, E. Klocke²

¹ N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Industry, St.-Petersburg, Russia, e-mail: akme11@yandex.ru;

² Institute for Breeding research on Horticultural and Fruit Crops of JKI, Quedlinburg, Germany

Summary

Genetic diversity and phylogenetic relationships of *Brassica rapa* L. were studied by the use of 96 accessions from the core collection of N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Industry and 10 new SSR primer pairs. 61 molecular (SSR) markers permitted to construct the UPGMA dendrogram where two main clusters were determined: the first cluster included generally leafy vegetable crops from East Asia, the second one – the turnip and all oilseed crops. The vegetable accessions were clustered in two clusters of Chinese cabbage and separate clusters of pak-choi and mizuna. Japanese leafy vegetables and hybrids between different subspecies were clustered together with morphologically close and genealogically related accessions. The use of SSR primers did not permit to isolate different botanic subspecies of the turnip and oilseed crops. However use of the microsatellite markers studied may be fruitful in breeding programs for differentiation of leafy *B. rapa* vegetables for search of genetically different genotypes.

**ДНК-МАРКЕРЫ ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ
ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)
С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ
AEGILOPS SPELTOIDES TAUSCH И *TRITICUM TIMOPHEEVII* ZHUK.**

**Е.А. Салина, Е.М. Егорова, И.Г. Адонина, О.Б. Добровольская,
Е.Б. Будашкина, И.Н. Леонова**

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

Широкое разнообразие ДНК-маркеров требует более тщательного их подбора для решения различных генетических задач. Микросателлитные (SSR) маркеры и зонды на основе различных клонированных повторенных последовательностей ДНК (Spelt1, pAs1, pSc119.2) были применены для генотипирования гибридов *T. aestivum* × *Ae. speltoides*, *T. aestivum* × *T. timopheevii* и для контроля передачи интрогрессированного материала в процессе возвратного скрещивания. На примере анализа интрогрессивных линий *T. aestivum* с генетическим материалом *Ae. speltoides* продемонстрирована эффективность комплексного использования различных типов молекулярных маркеров для генотипирования гибридных форм мягкой пшеницы. Зонд Spelt1 рекомендован для контроля передачи в поколениях генетического материала *Ae. speltoides*. Показано, что использование SSR-маркеров значительно облегчает и ускоряет процесс выявления моноинсерционных линий (содержащих только одну вставку на геном) от скрещивания *T. aestivum* × *T. timopheevii*. Оптимальной стадией для проведения микросателлитного анализа с целью отбора моноинсерционных растений является потомство третьего беккрасса.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, *Aegilops speltoides*, *T. timopheevii*, SSR-анализ, *in situ* гибридизация, интрогрессивные линии мягкой пшеницы, генотипирование, отбор с помощью молекулярных маркеров.

Введение

Дикорастущие сородичи мягкой пшеницы и вид *T. timopheevii* Zhuk. регулярно вовлекаются в селекционный процесс для создания новых форм пшеницы с улучшенными свойствами. Это прежде всего связано с тем, что данные виды содержат генетические локусы, контролирующие устойчивость к биотическим (например различные расы патогенных грибов) и абиотическим (например низкие и высокие температуры, избыток или недостаток влаги) факторам.

Уровень гомологии хромосом *Triticum aestivum* L. (геномная формула BBAADD), *Triticum timopheevii* Zhuk. (GGA^tA^t) и *Aegilops speltoides* Tausch (SS) различен, хотя геномы в группах B/G/S и A/A^t имеют общее происхож-

дение. Перенос генов от этих видов в геном мягкой пшеницы возможен путем гомеологичной рекомбинации по отдельным хромосомам *T. aestivum* и *T. timopheevii* или *Ae. speltoides*, имеющим высокий уровень коллинеарности (сходный порядок расположения маркеров на хромосомах) (Salina *et al.*, 2006a; Dobrovolskaya *et al.*, 2007). В случае нарушения коллинеарности хромосом в результате транслокаций, делеций и инсерций для переноса генов требуются другие подходы, а именно: радиационная обработка, использование механизма центромерного разрыва и слияния унивалентов в первой метафазе мейоза, включение в скрещивание форм мягкой пшеницы, мутантных по локусу *Ph1*, контролирующему гомологичное спаривание хромосом (Friebe *et al.*, 1996). В настоящее время в геном мягкой пшеницы успешно интегрирован ряд

генов устойчивости к болезням от *T. timopheevii* и *Ae. speltoides* (McIntosh *et al.*, 2003).

В последние десятилетия при изучении гибридных форм злаков широко используются молекулярные маркеры. В основе их применения для анализа состава гибридного генома лежат два подхода: 1) молекулярно-генетический, связанный с изучением геномной ДНК гибрида и его родительских форм; 2) молекулярно-цитологический, связанный со сравнительным анализом структуры хромосом. Для каждого подхода используется свой специфический набор маркеров.

В настоящее время насчитывается более 15 различных типов маркеров, используемых для молекулярно-генетического анализа генома растений. К наиболее популярным молекулярным маркерам можно отнести RFLP-, CAPS-, STS-, SSR-, SNP-, RAPD-, SCAR-, AFLP-, SSCP-, ISSR-маркеры (описание каждого типа маркера приведено в обзорах (de Vienne *et al.*, 2003; Хлесткина, Салина, 2006)). Для анализа гибридных форм злаков с целью характеристики замещений, транслокаций, возникших в процессе образования и стабилизации гибридов, наиболее подходящими являются маркеры индивидуальных локусов, картированные на хромосомах. В настоящий момент хромосомные карты пшеницы *T. aestivum* наиболее интенсивно насыщены SSR- (simple sequence repeats) и RFLP- (restriction fragment length polymorphism) маркерами, разработанными как на основе ядерной ДНК, так и на основе экспрессирующихся последовательностей ДНК (expressed sequence tags, EST). Использование SSR (синоним – микросателлиты) в качестве маркеров основано на полиморфизме числа повторяющихся единиц и консервативности фланкирующих последовательностей ДНК, прилегающих к микросателлиту (Morgante, Olivieri, 1993). В последние годы микросателлитные карты построены для видов *T. timopheevii* (Salina *et al.*, 2006a) и *Ae. speltoides* (Dobrovolskaya *et al.*, 2007), что значительно облегчает процесс генотипирования гибридов, полученных в результате скрещивания этих видов с мягкой пшеницей *T. aestivum*.

В основе молекулярно-цитологических методов анализа лежит гибридизация *in situ*, с помощью которой можно получить специфический рисунок хромосом. Гибридизация

in situ является, по существу, прямым методом локализации последовательностей ДНК на хромосомах. За почти 30-летнюю историю существования данного метода он претерпел значительные изменения, направленные на увеличение чувствительности в выявлении меченых зондов. В первую очередь радиоактивное мечение ДНК-зондов было заменено на более простые и эффективные системы нерадиоактивного мечения (для обзора см. Jiang, Gill, 1994). Одновременное использование в гибридизации *in situ* нескольких зондов, меченных различными флуорохромами, значительно расширило возможности картирования последовательностей ДНК на хромосомах и идентификации индивидуальных хромосом (см. Mukai, 1996). Для внутривидовой идентификации хромосом пшеницы и ее дикорастущих сородичей наиболее часто используют последовательности ДНК, входящие в состав различных семейств повторов (Salina *et al.*, 2006b). Так, например, одновременная гибридизация двух проб ДНК (pSc119.2, pAs1) позволяет идентифицировать 17 (из 21) хромосом генома мягкой пшеницы (Schneider *et al.*, 2003). Данный набор проб часто применяется и для анализа гибридных форм пшеницы. Перспективными ДНК-зондами для анализа гибридных форм также можно считать геном-специфичные повторяющиеся последовательности ДНК (Adonina *et al.*, 2004).

Целью настоящей работы является оценка эффективности различных ДНК-маркеров для генотипирования гибридов *T. aestivum* × *Ae. speltoides* и *T. aestivum* × *T. timopheevii*, а также изучение возможности их использования для контроля процессов интрогрессии.

Материалы и методы

Растительный материал. Семена интрогрессивных линий 32/98w и Л592-2 ($2n = 42$), полученных от скрещивания *T. aestivum* сорта Родина ($2n = 42$) с *Ae. speltoides* К-389 и К-1316 ($2n = 14$), а также семена родительских форм *T. aestivum* и *Ae. speltoides* были любезно предоставлены д.б.н. И.Ф. Лапочкиной (НИИ сельского хозяйства Центральные районы Нечерноземной зоны РАСХН, Московская область, пос. Немчиновка) и к.б.н. Т.А. Пшеничниковой (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск). Линия Л592-2

была получена путем рекомбинации гомеологичных хромосом, а линия 32/98w – с использованием γ -облучения пыльцы *Ae. speltooides* (Лапочкина, 1999).

Интрогрессивные линии мягкой пшеницы, содержащие фрагменты генома *T. timopheevii*, получали путем скрещивания мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 с гибридными линиями 744 и 832 (*T. aestivum* \times *T. timopheevii*, $2n = 42$), описанными ранее (Леонова и др., 2002). Гибриды F_1 были подвергнуты двум возвратным скрещиваниям с исходным сортом мягкой пшеницы, и 160 растений BC_2F_1 генотипированы микросателлитными маркерами. Отобранные растения BC_2F_1 были снова беккроссированы и 178 растений в потомстве от самоопыления (BC_3F_3) использованы для определения хромосомной локализации и размера фрагментов интрогрессии генома *T. timopheevii*.

Выделение ДНК и микросателлитный анализ. Суммарную ДНК выделяли из 5–7-дневных проростков по методу Плашке с соавторами (Plaschke *et al.*, 1995). В работе были использованы микросателлитные маркеры *Xgwm* (Röder *et al.*, 1998), *Xgdm* (Pestsova *et al.*, 2000), *Xgpw* (Sourdille *et al.*, 2001), *Xcfe* (Zhang *et al.*, 2005) с известной локализацией на хромосомах *T. aestivum*, *T. timopheevii* и *Ae. speltooides* (Salina *et al.*, 2006a; Dobrovolskaya *et al.*, 2007). Процедуру ПЦР (полимеразной цепной реакции) в случае прямого мечения одного из праймеров флуорохромом осуществляли согласно Родер с соавторами (Röder *et al.*, 1998). При использовании меченого праймера M13 и немеченых праймеров к микросателлитным локусам применялась методика Хайдена с соавторами (Hayden *et al.*, 2002). Разделение фрагментов ПЦР выполняли на автоматическом секвенаторе ABI3100 (Applied Biosystems) или на секвенаторе ALFexpress (Amersham Biosciences) в 6 % -м денатурирующем полиакриламидном геле. Размер фрагментов рассчитывали с помощью компьютерной программы Peak Scanner (Applied Biosystems) или программы Fragment Analyser 1.02 (Amersham Biosciences) относительно стандартных образцов ДНК известной длины.

ДНК зонды. Повторяющаяся последовательность Spelt1 с длиной мономера 178 пн была выделена из *Ae. speltooides* и клонирована в плазмидный вектор pBluescript II SK + (Salina

et al., 2004). Повтор pAs1 (мономер 336 пн) был выделен из генома *Aegilops tauschii* Coss. (Rayburn, Gill, 1986) и клонирован в плазмиду pUC8. Последовательность pSc119.2 с длиной мономера 120 пн изолирована из генома *Secale cereale* L. и клонирована в плазмидный вектор pBR322 (Bedbrook *et al.*, 1980).

Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH). Проводилась в соответствии с ранее опубликованной методикой (Salina *et al.*, 2006b).

Результаты

Использование ДНК-маркеров для генотипирования гибридных форм злаков на примере линий *T. aestivum* с генетическим материалом *Ae. speltooides*. Две линии, 32/98w и Л592-2, различающиеся по способу получения и по морфофизиологическим характеристикам, были выбраны для оценки эффективности различных ДНК-маркеров при генотипировании гибридных форм пшеницы. Линия 32/98w в отличие от линии Л592-2 обладала устойчивостью к бурой ржавчине, а линия Л592-2 характеризовалась высокой продуктивностью и качеством зерна. У обеих линий были отмечены также такие признаки, характерные для *Ae. speltooides* и отсутствующие у выбранного для скрещивания сорта пшеницы, как наличие антоциановой пигментации и безвосковый колос (Лапочкина, 1999; Salina *et al.*, 2001).

На первом этапе линии 32/98w и Л592-2 были изучены методом флуоресцентной *in situ* гибридизации с несколькими мечеными зондами: Spelt1, pAs1, pSc119.2. Повторы Spelt1 – это специфичные для генома *Ae. speltooides* субтеломерные последовательности ДНК (Salina *et al.*, 2006b). Высокая копияность Spelt1 и локализация на большинстве хромосомных плеч *Ae. speltooides* позволяют быстро выявлять участки интрогрессии хромосом *Ae. speltooides* в гибридных линиях. Результаты гибридизации *in situ* представлены на рис. 1. Линия Л592-2, так же, как и линия 32/98w, характеризуется присутствием двух блоков повтора Spelt1 на гаплоидный геном, локализованных на разных хромосомах. У обеих линий один блок Spelt1 расположен на хромосоме 7S, а второй маркирует терминальную транслокацию в коротком

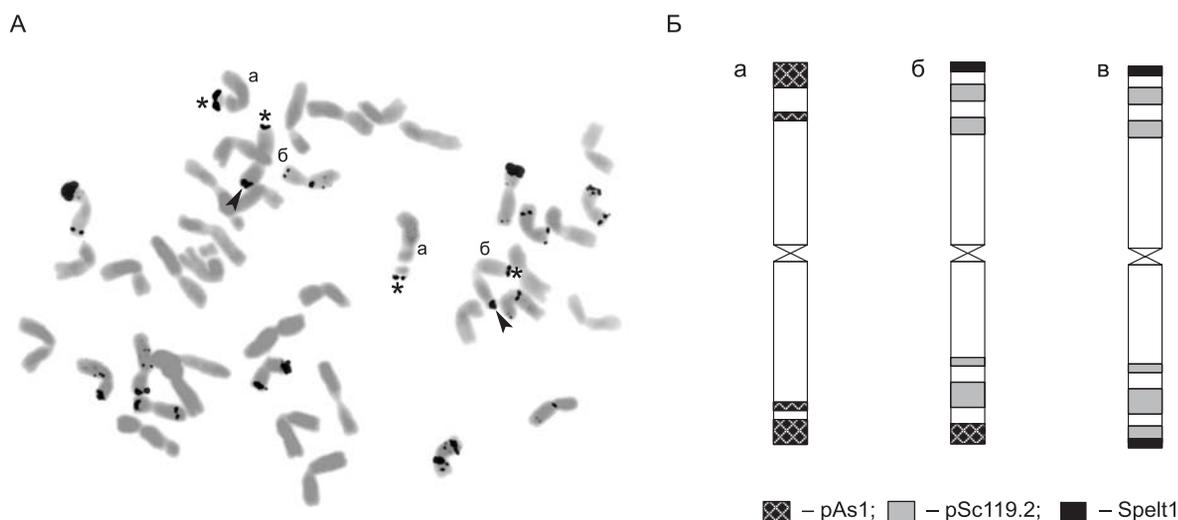


Рис. 1. Анализ линий мягкой пшеницы Л592-2 и 32/98w с генетическим материалом *Ae. speltoides* с помощью FISH.

А – результаты FISH со Spelt1 и pAs1 на препарате метафазных хромосом линии 32/98w: а – хромосома 1SS-1BS-1BL; б – хромосома 7SS-7SL-7DL. Звездочками отмечены места локализации зонда Spelt1, стрелками – сайты повтора pAs1 на транслоцированной хромосоме 7SS-7SL-7DL.

Б – идеограмма, демонстрирующая распределение проб Spelt1, pSc119.2 и pAs1: а – на хромосоме 7D *T. aestivum* сорта Родина; б – на транслоцированной хромосоме 7SS-7SL-7DL интрогрессивных линий и в – на хромосоме 7S *Ae. speltoides* K-389.

плече хромосомы 1B (рис. 1, а). Результаты гибридизации хромосом линий 32/98w и Л592-2 одновременно с двумя зондами Spelt1/pSc119.2 свидетельствовали о замещении хромосомы 7D на хромосому 7S. Однако использование в гибридизации одновременно зондов Spelt1 и pAs1 позволило сделать вывод о неполном замещении хромосомы 7D на хромосому 7S у этих линий (рис. 1, б), так как на длинном плече хромосомы 7S отсутствует блок повтора Spelt1, но присутствует повтор pAs1, маркирующий терминальный участок хромосомы 7D.

При создании линий от скрещивания *T. aestivum* × *Ae. speltoides* возможны различные транслокационные и делеционные процессы, приводящие к изменению структуры хромосомы, что может привести к ошибкам при ее идентификации. Для уточнения характера замещения по седьмой группе хромосом у линий 32/98w и Л592-2 был проведен SSR-анализ с использованием соответствующих маркеров: для хромосомы 7A: *Xgwm* – 233, 471, 681, 834, 130, 60, 573, 260, 282, 63, 332, 984, 750; для хромосомы 7B: *Xgwm* – 961, 263, 569, 573, 46, 1054, 897, 963, 274, 984, 146; для хромосомы 7D: *Xgwm* – 44, 111, 437, 428,

37; для хромосомы 7S: *Xgpw1054*. Результаты SSR-анализа для маркеров 7D/7S представлены в табл. 1. При амплификации маркеров у обеих родительских форм исчезновение ПЦР-продукта мягкой пшеницы и появление фрагментов амплификации, характерных для *Ae. speltoides*, как в случае маркеров *Xgwm428* и *Xgpw1101* (табл. 1), указывают на замещение хромосомы пшеницы или ее участка. В случае амплификации маркера только у одного из родителей отсутствие ПЦР-продукта у интрогрессивных линий указывает на делецию или замещение данного фрагмента хромосомы мягкой пшеницы. Поскольку цитологическими методами хромосомные делеции у линий 32/98w и Л592-2 не были выявлены, отсутствие амплификации маркеров хромосомы 7D, характерных для сорта Родина, указывает на замещение хромосомы 7D на хромосому *Ae. speltoides* в этих линиях (табл. 1). В связи с тем что на концевых участках хромосом *Ae. speltoides* SSR-маркеры пока не картированы (Dobrovolskaya *et al.*, 2007), выявлять транслокации в этих районах с помощью данной группы маркеров затруднительно. По этой же причине с помощью SSR-анализа не удалось

Таблица 1

SSR-анализ линии Л592-2 с помощью маркеров, локализованных на хромосомах 7D и 7S

Маркер	Локализация	Длина фрагментов амплификации (пн)		
		Родина	<i>Ae. speltoides</i> *	Л592-2
<i>Xgwm44</i>	7DS	179	0	0
<i>Xgwm111</i>	7Dcentr	209	0	0
<i>Xgwm437</i>	7DL	116	0	0
<i>Xgwm428</i>	7DL	129	106, 192	106
<i>Xgwm37</i>	7DL	159	0, 135	0
<i>Xgpw1101</i>	7SL	183, 186	181, 203	181, 188

* Длина аллелей маркеров хромосомы 7S *Ae. speltoides* выделена жирным шрифтом.

охарактеризовать все участки транслокаций, выявляемые при гибридизации зонда Spelt1 на хромосомах интрогрессивных линий 32/98w и Л592-2 (рис. 1, а).

Таким образом, для оценки характера интрогрессии у линий, полученных при отдаленной гибридизации злаков, необходимо использование различных методических подходов и разных классов молекулярных маркеров.

SSR-маркеры как инструмент отбора генотипов с заданной геномной структурой. Ранее при SSR-анализе 24 интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. timopheevii*, устойчивых к листовой ржавчине, нами было выявлено от 2 до 8 фрагментов хромосом *T. timopheevii* в составе гибридного генома. Участки интрогрессии были обнаружены в следующих хромосомах: 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 5A, 5B, 6B. Множественный характер интрогрессии практически не позволял изучить влияние индивидуальных локусов *T. timopheevii* на формирование различных количественных признаков мягкой пшеницы. Мы использовали набор SSR-маркеров, локализованных в областях выявленных интрогрессий, для контроля создания линий мягкой пшеницы, содержащих единичные вставки генетического материала *T. timopheevii*.

Для этой цели из коллекции интрогрессивных линий были взяты линии 744 и 832 с высоким содержанием генетического материала *T. timopheevii*. Линии созданы на основе сорта мягкой пшеницы Саратовская 29, но различаются между собой протяженностью и хромосомной локализацией фрагментов интрогрессии. Так,

линия 744 содержит транслокации и/или замещения по хромосомам 1A, 2A, 3BL, 5AL, 5BL, 6B, а линия 832 – по хромосомам 1A, 1BL, 2AS, 2B, 3AL, 5AL, 5BL, 6BL (Леонова и др., 2002). Выбранные линии были скрещены с сортом Саратовская 29, затем двукратно им беккроссированы, и 75 растений BC₂F₁ генотипированы микросателлитными маркерами. Всего было использовано 75 полиморфных *Xgwm* маркеров, картированных на хромосомах *T. aestivum* и *T. timopheevii*, вовлеченных в рекомбинационные процессы при создании исходных гибридных линий (Леонова и др., 2002). По данным SSR-анализа из потомства BC₂F₁ были отобраны растения, содержащие следующие комбинации хромосом с интрогрессиями: 1) 1A, 2A, 5B, 6B; 2) 1A, 2A, 2B; 3) 1A, 2A, 2B, 5A; 4) 1A, 1B, 2A, 2B; 5) 1A, 2A, 2B, 5B, 6B; 6) 1B, 2B, 5B, 6B, включая хромосомы 5B и 2A, несущие локусы устойчивости к листовой ржавчине *QLr.icg-5B* и *QLr.icg-2A T. timopheevii* (Леонова и др., 2008). Не было обнаружено гибридных растений, содержащих один или два фрагмента генома *T. timopheevii*, так как выделение таких генотипов уже на стадии BC₂ требует значительно более представительной выборки растений. Также в процессе возвратного скрещивания были утеряны небольшие интрогрессии в хромосомах 3A, 3B, выявленные по 1–2 маркерам.

Потомство отобранных гибридных растений было использовано для проведения третьего беккросса и последующего самоопыления. Для генотипирования 178 растений BC₃F₃ было использовано 45 микросателлитных *Xgwm* и *Xgpw* маркеров с известной хромосомной ло-

Таблица 2

Список микросателлитных маркеров (*Xgwm* и *Xgprw*), использованных для генотипирования растений BC_3F_3 популяции линий *T. aestivum* с генетическим материалом *T. timopheevii*

Хромосома	Маркеры <i>Xgwm</i>	Маркеры <i>Xgprw</i>
1A	33, 99, 164, 633, 691, 750, 752, 1104, 1097, 148, 1233	7072, 7258a
1BL	18, 153, 818	7258b
2A	95, 312, 372, 726, 526, 830, 846, 1151, 1198, 1256	7501a
2B	120, 257, 630, 785, 1027, 1048	1109, 7501b
5BL	408, 499, 814, 1054, 1257	
6B	361, 518, 626, 785, 889, 1233	

кализацией у *T. aestivum* и *T. timopheevii* – от 4 до 12 маркеров на хромосому (табл. 2). Число интрогрессий в потомстве гибридных растений третьего беккросса существенно сократилось (до 1–4 на растение) по сравнению с гибридами BC_2F_1 , при этом 5 растений из 178 потеряли генетический материал *T. timopheevii* в результате беккроссирования. Анализ гибридных растений BC_3F_3 показал присутствие вставок на хромосомах 1A, 1BL, 2A, 2B, 5BL и 6B. Не было обнаружено растений, имеющих фрагменты интрогрессии в хромосоме 5A. У растений BC_3F_3 выявлены следующие комбинации хромосом с интрогрессиями: 1) 2A; 2) 2B; 3) 5B; 4) 6B; 5) 1A, 5B; 6) 2A, 2B; 7) 2A, 5B; 8) 2B, 6B; 9) 1A, 2A, 2B; 10) 1A, 2A, 5B; 11) 1A, 2B, 5B; 12) 1B, 2A, 2B; 13) 2A, 2B, 5B; 14) 1A, 2A, 2B, 5B. Всего было выявлено моноинсерционных растений, т. е. содержащих только одну вставку на геном: по хромосоме 1A – 11, по 2A – 2, по 2B – 13, по 2BL – 6, по 5BL – 7, по 6B – 3. Следует отметить, что гомеологичные хромосомы 1A/1A^t, 2A/2A^t, 2B/2G, 5B/5G, 6B/6G в процессе эволюции не подвергались существенным перестройкам (Salina *et al.*, 2006a). В связи с этим следует ожидать нормального прохождения рекомбинационных процессов между ними и как следствие – различия по длине интрогрессивных фрагментов внутри одной серии (по одной хромосоме) моноинсерционных растений.

Большинство BC_3F_3 гибридов содержит 2 или 3 фрагмента генетического материала *T. timopheevii* – 44,4 и 21,4 % соответственно (табл. 3). Достаточно высок процент растений, несущих одиночные вставки – 24,7 %.

Учитывая, что при анализе потомств BC_2 растений с 1 и 2 вставками выявлено не было, а растения BC_3 содержали от 1 до 4 интрогрессий от *T. timopheevii*, следует считать, что оптимальной стадией для проведения микросателлитного анализа с целью отбора моноинсерционных растений из потомства гибридов *T. aestivum* и *T. timopheevii* с множественными фрагментами интрогрессии является потомство третьего беккросса.

Обсуждение

Фенотипическая оценка гибридов мягкой пшеницы позволяет выявлять линии, в которых присутствует генетический материал от родителя-донора. Так, в потомстве от скрещивания *T. aestivum* × *T. timopheevii* были отобраны линии с морфологическими и физиологическими признаками, характерными для *T. timopheevii*,

Таблица 3

Оценка содержания фрагментов хромосом *T. timopheevii* у растений BC_3F_3

Число фрагментов <i>T. timopheevii</i> в геноме	Растения со вставкой (от общего числа изученных растений), %	Число растений
1	24,7	44
2	44,4	79
3	21,4	38
4	6,7	12
0	2,8	5
		Всего: 178

при этом основной акцент был сделан на устойчивость к бурой ржавчине (Budashkina, 1988). Признаки, характерные для *Ae. speltooides*, были отмечены при анализе линий, полученных от скрещивания *T. aestivum* × *Ae. speltooides*. Некоторые из них обладали устойчивостью к бурой ржавчине, например линия 32/98w, или мучнистой росе, или к обоим патогенам одновременно. Часто у интрогрессивных линий, в том числе у линий 32/98w и Л592-2, выявлялась антоциановая окраска пыльников и стебля, характерная для *Ae. speltooides*, родителя-донора (Лапочкина, 1999; Salina *et al.*, 2001).

Для картирования и изучения влияния генов, интрогрессированных от донора, на формирование количественных хозяйственно ценных признаков у мягкой пшеницы необходимо провести оценку локализации и протяженности интрогрессированных фрагментов. Ранее неоднократно было показано, что SSR-маркеры являются удобным инструментом для оценки характера интрогрессии у гибридных форм пшеницы (Леонова и др., 2002). Однако использование данного класса маркеров при анализе линий 32/98w и Л592-2 показало, что выявляются не все фрагменты хромосом *Ae. speltooides*, интрогрессированные в геном мягкой пшеницы. Так, в обеих линиях при гибридизации субтеломерного зонда Spelt1, специфичного для *Ae. speltooides*, выявляются два участка интрогрессии на гаплоидный геном. Причем в случае хромосом седьмой группы с помощью комбинации различных зондов показана транслокация 7SS·7SL-7DL. SSR-маркерами был выявлен только один участок интрогрессии, который детектируется как замещение 7S/7D. Транслокация 7SS·7SL-7DL не была обнаружена в связи с тем что SSR-маркеры не картированы в концевых районах изучаемых хромосом. По этой же причине SSR-анализ не выявил терминальную транслокацию 1SS-1BS-1BL, обнаруженную в обеих линиях в результате *in situ* гибридизации. Несмотря на вышеуказанные недостатки, следует отметить, что молекулярно-генетический подход с использованием SSR-маркеров является базовым инструментом анализа гибридов в сочетании с методами цитологического анализа.

Обращает на себя внимание тот факт, что используемые молекулярно-цитологические и молекулярно-генетические подходы не выявили

различий по геномному составу между линиями Л592-2 и 32/98w. В обеих линиях обнаружены транслокации 7SS·7SL-7DL и 1SS-1BS-1BL. С транслокацией 7SS·7SL-7DL связано появление у обеих линий антоциановой пигментации пыльников и стебля, так как показано, что гены, контролирующие проявление данных признаков, расположены в коротком плече седьмой гомеологической группы хромосом (см. обзор Khlestkina *et al.*, 2008). Предполагают, что на хромосоме 7S расположен ген-ингибитор воскового налета (Пухальский и др., 1999), что может объяснить его отсутствие на колосе у линий Л592-2 и 32/98w. Пока не ясно, как можно объяснить выявляемые различия между линиями по ряду признаков, а именно: по устойчивости к бурой ржавчине, показателям продуктивности и качеству зерна. Возможно, это связано с различной протяженностью участков хромосомы 1S *Ae. speltooides*, транслоцированных в хромосому 1B у этих линий.

В последние годы все больше внимания уделяется использованию ДНК-маркеров в селекционных процессах для быстрого и эффективного отбора нужных генотипов растений. На преимущества использования молекулярных маркеров в селекции (marker assisted selection – MAS) указывалось давно (Tanksley *et al.*, 1989). Однако работы по этой теме стали появляться только в последние годы, причем в основном направленные на отбор нужных генотипов, полученных от внутривидового скрещивания (Kuchel *et al.*, 2007; Rae *et al.*, 2007). Особенностью проводимого нами исследования было применение MAS для отбора целевых генотипов из линий, полученных от межвидового скрещивания, а именно от скрещивания *T. aestivum* с *T. timopheevii*. Взятые в анализ линии 744 и 832 отличались множественным характером интрогрессии. Необходимо было создать на их основе коллекцию стабильных моноинсерционных линий для изучения влияния гомеологических локусов на формирование количественных признаков пшеницы, на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам внешней среды. В настоящий момент нет единой схемы, рекомендованной для MAS. В нашем случае по результатам оценки числа фрагментов интрогрессии у растений второго и третьего беккросса (табл. 3) можно сказать,

что оптимальной стадией SSR-анализа и отбора моноинсерционных линий из гибридных линий со множественными вставками является потомство третьего беккросса. Хотя в случае направленности отбора на уменьшение размера встроенного фрагмента применение SSR-маркеров желательнее для растений BC₁ (Salina *et al.*, 2003). Также следует учесть и тот факт, что для создания моноинсерционных линий по субтеломерным транслокациям необходимо подключать в анализ зонды, маркирующие данную область. Например, зонд Spelt1 является перспективным при проведении MAS с целью отбора подобных линий от скрещивания *T. aestivum* с *Ae. speltoides*.

Использование молекулярных маркеров для отбора растений позволяет значительно сократить время получения моноинсерционных линий. Кроме того, применение маркеров позволяет получать линии по локусам, не проявляющимся фенотипически в гибридном геноме. Создание и изучение моноинсерционных линий по различным участкам генома может являться важной ступенью в понимании процессов взаимодействия гомеоаллельных генов и эволюции аллополиплоидного ядра.

Благодарности

Авторы статьи признательны И.Ф. Лапочкиной за предоставление интрогрессивных линий мягкой пшеницы 32/98w и Л592-2.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексного интеграционного проекта СО РАН №5.8, Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-04-12064) и Федеральной целевой программы РФ (Госконтракт 02.512.11.2256).

Литература

Лапочкина И.Ф. Реконструкция генома мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при отдаленной гибридизации (с использованием *Aegilops* L. и других видов): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Немчиновка: НИИСХ ЦРНЗ, 1999. 50 с.

Леонова И.Н., Родер М.С., Будашкина Е.Б. и др. Молекулярный анализ устойчивых к бурой ржавчине интрогрессивных линий, полученных при скрещивании гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* // Гене-

тика. 2002. Т. 38. С. 1648–1655.

Леонова И.Н., Родер М.С., Калинина Н.П., Будашкина Е.Б. Генетический анализ и локализация локусов, контролирующей устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине // Генетика. 2008. Т. 44. № 12. С. 1652–1659.

Пухальский В.А., Иорданская И.В., Бадаева Е.Д. и др. Генетический анализ признака «отсутствие воскового налета на колосе» у линии мягкой пшеницы // Генетика. 1999. Т. 35. С. 1223–1227.

Хлесткина Е.К., Салина Е.А. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы // Генетика. 2006. Т. 42. С. 725–736.

Adonina I.G., Salina E.A., Efremova T.T. *et al.* The study of introgressive lines of *Triticum aestivum* × *Aegilops speltoides* by *in situ* and SSR analyses // Plant Breeding. 2004. V. 123. P. 220–224.

Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M. *et al.* A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale species* // Cell. 1980. V. 19. P. 545–560.

Budashkina E.B. Cytogenetic study of introgressive disease resistant common wheat lines // Tag Ber. Acad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, 1988. 206. P. 209–221.

de Vienne D. Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology. Enfield, NH, USA: Sci. Publ. Inc., 2003. 239 p.

Dobrovolskaya O., Salina E., Bernard M. *et al.* Map-based comparative analysis of the S, G, and B genomes of Triticeae species // Abstract Book of the 6th Plant Genomics European Meeting. Puerto de la Cruz, Tenerife, 3–6 October 2007. Puerto de la Cruz: P03. 2.

Friebe B., Yiang J., Raupp W.J. *et al.* Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status // Euphytica. 1996. V. 91. P. 59–87.

Jiang J., Gill B.S. Nonisotopic *in situ* hybridization and plant genome mapping: the first 10 years // Genome. 1994. V. 37. № 5. P. 717–725.

Hayden M., Good G., Sharp P.J. Sequence tagged microsatellite profiling (STMP): improved isolation of DNA sequence flanking target SSRs // Nucl. Acids Res. 2002. V. 30. P. 129–133.

Khlestkina E.K., Roder M.S., Pshenichnikova T.A. *et al.* Genes for anthocyanin pigmentation in wheat: review and microsatellite-based mapping // Chromosome Mapping Research Developments / Eds J.F. Verrity, L.E. Abbingdon. N.Y.: NOVA Science Publ., Inc, USA, 2008. P. 155–175.

Kuchel H., Fox R., Reinheimer J. *et al.* The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy // Mol. Breeding. 2007. V. 20. P. 295–308.

McIntosh R.A., Yamazak Y., Devos K.M. *et al.*

- Catalogue of gene symbols for wheat. www.grs.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/. 2003.
- Morgante M., Olivieri A.M. PCR – amplified microsatellites as markers in plant genetics // *Plant J.* 1993. V. 3. № 1. P. 175–182.
- Mukai Y. Multicolor fluorescence *in situ* hybridization: a new strategy for plants: their merits and pitfalls // *Methods in Genome Analysis in Plants*. Boca Raton: CRC Press, 1996. P. 181–194.
- Pestsova E., Ganal M.W., Roeder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat // *Genome*. 2000. V. 43. P. 689–697.
- Plaschke J., Ganal M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers // *Theor. Appl. Genet.* 1995. V. 91. P. 1001–1007.
- Rae S.J., Macaulay M., Ramsay L. *et al.* Molecular barley breeding // *Euphytica*. 2007. V. 158. P. 295–303.
- Rayburn A.L., Gill B.S. Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa* // *Plant. Mol. Biol. Rep.* 1986. V. 4. P. 102–109.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. *et al.* A Microsatellite map of wheat // *Genetics*. 1998. V. 149. P. 2007–2023.
- Salina E.A., Adonina I.G., Efremova T.T. *et al.* The genome-specific subtelomeric repeats for study of introgressive lines *T. aestivum* × *Ae. speltoides* // *EWAC Newslett.* 2001. P. 161–164.
- Salina E.A., Dobrovolskaya O.B., Efremova T.T. *et al.* Microsatellite monitoring of recombination around of *Vrn-B1* locus of wheat during early backcross breeding // *Plant Breeding*. 2003. V. 122. P. 116–110.
- Salina E., Adonina I., Vatolina T. *et al.* A comparative analysis of the composition and organization of two subtelomeric repeat families in *Aegilops speltoides* Tausch and related species // *Genetica*. 2004. V. 122. P. 227–237.
- Salina E.A., Leonova I.N., Efremova T.T. *et al.* Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization // *Funct. Integr. Genomics*. 2006a. V. 6. P. 71–80.
- Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D. *et al.* A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids // *Genome*. 2006b. V. 49. P. 1023–1035.
- Schneider A., Linc G., Molnar-Lang M. Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat // *Plant Breeding*. 2003. V. 122. P. 396–400.
- Sourdille P., Guyomarc'h H., Baron C. *et al.* Improvement of the genetic maps of wheat using new microsatellite markers // *Plant and animal genome IX, final abstracts guide*. 2001. Foster City, Calif: Applied Biosystems Press, 2001. P. 167.
- Tanksley S.D., Young N.D., Paterson A.H. *et al.* RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science // *Biotechnology*. 1989. V. 7. P. 257–264.
- Zhang L.Y., Bernard M., Leroy P. *et al.* High transferability of bread wheat EST-derived SSRs to other cereals // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 111. P. 677–687.

**DNA-MARKERS FOR GENOTYPING OF COMMON WHEAT
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) LINES WITH TRANSLOCATIONS
FROM *AEGILOPS SPELTOIDES* TAUSCH
AND *TRITICUM TIMOPHEEVII* ZHUK.**

E.A. Salina, E.M. Egorova, I.G. Adonina, O.B. Dobrovolskaya, E.B. Budashkina, I.N. Leonova

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

For decision of different genetic tasks more careful choice of DNA-markers is required. Microsatellite (SSR) markers and Spelt1, pAs1, pSc119.2 were used for genotyping of *T. aestivum* × *Ae. speltoides* and *T. aestivum* × *T. timopheevii* hybrids and for the monitoring of transfer of an alien genetic material. The efficiency of complex use of various types of molecular markers was demonstrated for the analysis of *T. aestivum* × *Ae. speltoides* hybrids, as an example. Probe Spelt1 is recommended for the control of introgressions of *Ae. speltoides* genetic material in the progeny. It has been shown that application of SSR-markers significantly reduces time of development of *T. aestivum* × *T. timopheevii* monoinserted lines (containing only one introgression on a genome). The progeny of the third backcross is a more optimal stage for selection of monoinserted lines by means of SSR-markers.

ТЕСТИРОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА В СОРТАХ И ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ МНОГОЛЕТНЕЙ ЛЮЦЕРНЫ

С.Э. Смоленская, Э.В. Квасова, О.Е. Редина

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: oredina@bionet.nsc.ru

Проводили сравнительный анализ геномов люцерны сортов Омская 192 и Марусинская 425 (*Medicago varia* Mart.), а также двух высокоинбредных линий из поколений I₄₀ и I₅₅, полученных из сорта Омская 192. В исходных сортовых популяциях люцерны Омская 192 и Марусинская 425 обнаружен молекулярный полиморфизм. Анализ инбредных линий № 140 (I₄₀) и № 106 (I₅₅) показал, что у маркеров D12Rat4 и D8Rat81 наблюдается высокое единообразие рисунка амплифицированных фрагментов, однако рисунки изученных поколений не идентичны. Для маркеров D11Rat87 и D6Rat107 наблюдается единообразие рисунка фрагментов в линии № 140 (I₄₀) и полиморфизм в линии № 106 (I₅₅). Обратная картина была получена при использовании маркера DXRat67. Показано, что линия № 140 (I₄₀) характеризуется более высокой жизнеспособностью, чем линия № 106 (I₅₅), при этом в I₅₅ поколении уровень негативной изменчивости был более высоким. Поскольку оба поколения, I₄₀ и I₅₅, представлены высокоинбредными линиями, различающимися, однако, по уровню жизнеспособности, то характер рисунка амплифицированных фрагментов, наблюдаемый в этих поколениях, может быть связан с признаками глубины инбредной депрессии.

Ключевые слова: многолетняя люцерна, ДНК-полиморфизм, инбредные линии.

Введение

Инбредные линии являются уникальным инструментом для изучения генетической основы сходства и различий морфологических, физиологических и биохимических признаков, характеризующих исходную сортовую популяцию. Длительный отбор по адаптивно важным признакам, сопровождающийся тесным инбридингом, приводит к глубоким преобразованиям генотипических и фенотипических особенностей линий (Иовлева, Мыльников, 2007). Одним из адаптивно важных признаков в селекции люцерны является признак самофертильности. Данный признак может изменяться под влиянием условий внешней среды. В сортовых популяциях многолетней люцерны наблюдается значительная изменчивость по данному признаку. Вместе с тем некоторые клоны ведут себя весьма стабильно (Квасова, Шумный, 1986). В популяции люцерны Омская 192 в течение многих лет проводился отбор на самофертильность, в результате которого были получены инбредные линии. Уровень самофертильности

в линиях разных поколений сильно варьировал (Квасова, Шумный, 1983). Для исследования генетического разнообразия инбредного материала успешно используются молекулярные маркеры (Matveeva *et al.*, 2002; Попов и др., 2002). Целью настоящей работы являлось изучение морфологической изменчивости, а также внутрелинейного и межлинейного полиморфизма в разных поколениях инбредных линий люцерны (*M. varia* Mart.), полученных из сорта Омская 192, а также в сортовых популяциях люцерны Омская 192 и Марусинская 425.

Материал и методы

Характеристика растительного материала. Сорта: Омская 192, люцерна синегибридная, и Марусинская 425, люцерна желтогибридная (желтая дикорастущая пойменная × синяя) относятся к виду *Medicago varia* Mart. (Гончаров, Лубенец, 1985). Инбредные линии (табл. 1) получены на основе сорта Омская 192 в Институте цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Отбор материала для выращивания каждого

Таблица 1

Характеристики инбредных линий многолетней люцерны Омская 192

Поколение инбридинга	№ линии	Всхожесть, %	Число растений, <i>n</i>	Число цветков в кисти	Самофертильность в линии, % бобов с семенами
I ₀	–	22,0	–	10–23	–
I ₁₇	282	82,0	98	4–12	75,0
I ₄₀	140	84,0	216	9–13	33,0
I ₅₅	106	84,6	39	10–14	14,3

последующего поколения проводили по признаку самофертильности, который определяли по числу завязавшихся бобов с семенами от искусственного самоопыления.

Выделение ДНК. ДНК выделяли из ткани 4-дневных проростков люцерны с использованием протеиназы К и фенольной экстракции по стандартной методике (Sambrook *et al.*, 1989). Далее ДНК переосаждали и растворяли в деионизированной воде. Всего проанализировано проростков: сорт Омская 192 – 4 шт., сорт Марусинская 425 – 4 шт., линия 282 (I₁₇) – 2 шт., линия 140 (I₄₀) – 7 шт. и линия 106 (I₅₅) – 6 шт.

Молекулярные маркеры и полимеразная цепная реакция на геномной ДНК люцерны. Для исследования полиморфизма инбредных растений люцерны были протестированы ДНК-маркеры: D3Rat65, D3Rat109, D4Rat76, D5Rat85, D6Rat80, D6Rat107, D8Rat81, D9Rat79, D10Rat67, D10Rat160, D11Rat87, D12Rat4, DXRat90, DXRat67 (www.ensembl.org). Из 14 маркеров были отобраны 5 (табл. 2) со стабильным спектром амплификатов, хорошо воспроизводимым в повторных экспериментах. Спектры амплифицированных фрагментов представлены на рис. 1. Отсутствие фрагментов в дорожках с негативным контролем под-

тверждает специфичность работы праймеров на геномной ДНК.

ПЦР проводили в 1х буфере (67 мМ трис-НСI (рН 8,9); 16 мМ (NH₄)₂SO₄; 1,5 мМ MgCl₂; 0,01 % Tween 20; 10 мМ бета-меркаптоэтанол), 200 мкМ каждого из четырех dNTP, 3 мкМ каждого праймера с добавлением 50–100 нг ДНК и 1 ед. активности фермента Taq 1 ДНК-полимеразы (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск). Реакцию амплификации проводили по следующей схеме: начальная денатурация 94 °С – 4 мин; 39 циклов амплификации: денатурация при 94 °С – 20 с, отжиг праймеров при 46 °С – 15 с, элонгация при 72 °С – 50 с. Заключительную элонгацию проводили в течение 5 мин при 72 °С.

Анализ ПЦР-фрагментов. ПЦР-фрагменты анализировали электрофорезом в 8 %-м полиакриламидном геле. Электрофорез проводили в трис-боратном буфере (1×ТВЕ) при напряженности 10В/см. Для визуализации разделенных ПЦР-фрагментов гель окрашивали бромистым этидием и фотографировали с помощью гелимиджера Biometra (Germany).

Результаты и обсуждение

Многолетняя люцерна – автотетраплоид. Ее сложная генетическая природа затрудняет

Таблица 2

Праймеры, использованные в работе

№	Маркер	Праймеры, 5'→ 3'
1	D6Rat107	CGAAATGATCCCCAATTCAG CCTATTGCAAGCTTTCTCCA
2	D8Rat81	AAAGGTGGTAGGGCAGGATC TGTCCTCGTCTGTCAAATGG
3	D11Rat87	GTCAATTACTCACTCCATCC TCAACTAACACCTTCTTCTAC
4	D12Rat4	ACATATGTGTGGGTGCATGG TGCATGAGGGACTGAGTCTG
5	DXRat67	CCTGCCTGGAATGACTCTG STATGATTTGTGGGATGGCC

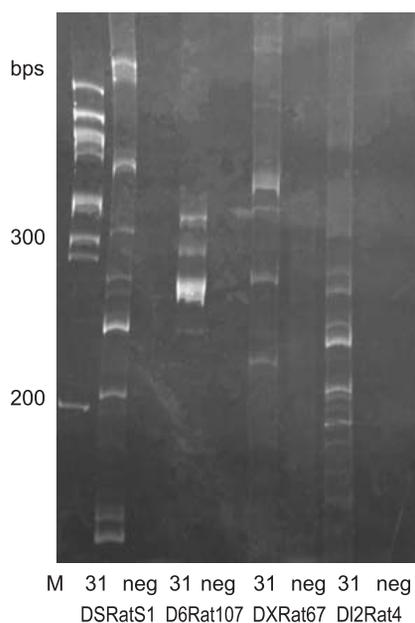


Рис. 1. Спектры амплифицированных фрагментов для маркеров D8Rat81, D6Rat107, DXRat67 и D12Rat4 и специфичность их работы на геномной ДНК люцерны *Medicago varia* Mart. Омская 192 (I₄₀, линия № 31).

исследование полиморфизма методами классического генетического анализа. С введением молекулярных маркеров в практику биологических исследований появились новые возможности изучения генетического разнообразия и определения родства на внутри- и межвидовом уровне (Diwan *et al.*, 2000; Bardakci, 2001).

При анализе 4 генотипов сорта Марусинская 425 и 4 генотипов Омская 192 были получены как различные, так и сходные амплифицированные фрагменты (рис. 2, а–д), что предполагает частичное сходство геномов данных сортов по ряду признаков. Такая же картина частичного сходства, наблюдаемая при сравнении исходных сортов, была получена и в проанализированных инбредных линиях № 140 (I₄₀) и № 106 (I₅₅).

Исследование генома инбредных линий Омская 192 с помощью молекулярных маркеров показало, что при отборе на самофертильность абсолютная гомозиготность не достигается и часть популяции остается гетерогенной. В инбредных поколениях люцерны «закрепились» определенные рисунки амплификатов для отдельных маркеров, что вероятно, связано с

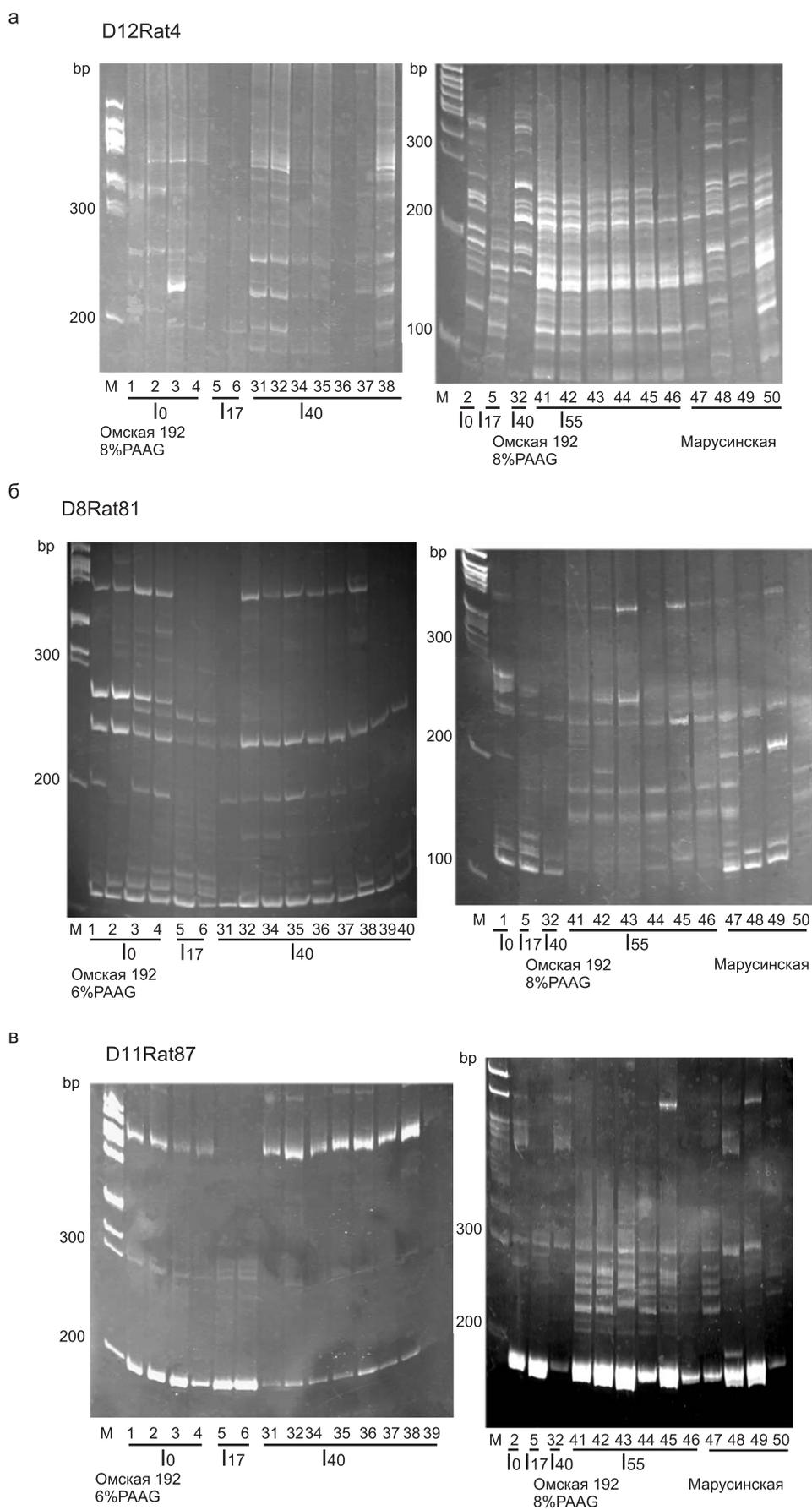
многолетним отбором по признакам, характеризующим жизнеспособность.

При анализе инбредных линий Омская 192 для маркеров D12Rat4 и D8Rat81 наблюдается высокое единообразие рисунка амплифицированных фрагментов в линиях поколений I₄₀ и I₅₅, однако рисунки в этих поколениях не идентичны (рис. 2, а, б). Для маркеров D11Rat87 и D6Rat107 наблюдается единообразие рисунка фрагментов в линии № 140 (I₄₀) и полиморфизм в линии № 106 (I₅₅) (рис. 2, в, г). Обратная картина была получена при анализе маркера DXRat67 (рис. 2, д).

Инбридинг служит одним из эффективных способов изучения механизмов, направленных на поддержание сбалансированности генетических систем. В соответствии с теорией в инбредных линиях должно происходить систематическое уменьшение гетерозиготности и возрастание гомозиготности. Однако в литературе приводится немало данных, свидетельствующих о повышении фенотипической изменчивости инбредных линий по сравнению с аутбредными (Нарбут, 1966; Лутова и др., 1994).

При проведении инбридинга в популяции Омская 192 в ряду поколений наблюдали значительную изменчивость по морфологическим признакам и характеристикам размножения (табл. 3). Накопление морфологической изменчивости в инбредных линиях при отборе на самофертильность привело к увеличению процента самостерильных растений и, следовательно, оказало влияние на жизнеспособность линий. Линии I₄₀ характеризуются более высокой жизнеспособностью, чем линии I₅₅. В линиях поколения I₅₅ наблюдается более высокий уровень негативной изменчивости. Изменение способности к перекрестному опылению под действием инбридинга и выделение самофертильных форм у многолетней люцерны привело к снижению жизнеспособности инбредных растений. Вероятно, генетическая природа различий между линиями сорта Омская 192 при длительном отборе по репродуктивным признакам в значительной мере сводится к разному соотношению в них признаков, влияющих на жизнеспособность.

Ранее было показано, что разнонаправленный отбор по репродуктивной функции в популяциях дрозофилы привел к получению инбредных ли-



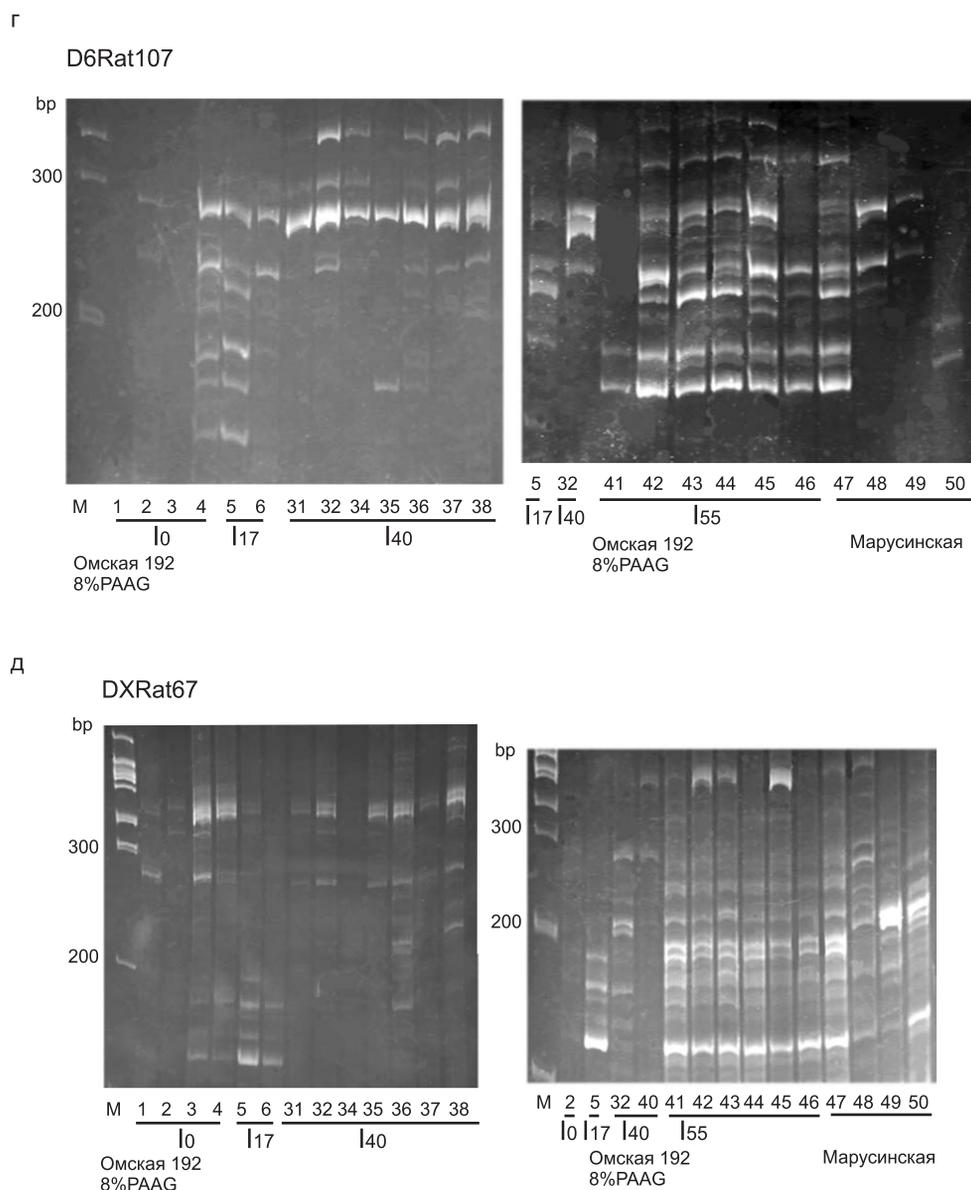


Рис. 2. Полиморфизм в геномной ДНК сортов люцерны *Medicago varia* Mart. Омская 192 и инбредных линий сорта Омская 192 (I₁₇, I₄₀ и I₅₅), найденный при использовании маркеров: а – D12Rat4; б – D8Rat81; в – D11Rat87; г – D6Rat107; д – DXRat67.

ний, различающихся по целому комплексу адаптивно важных свойств, в том числе фертильности и продолжительности жизни (Кайданов и др., 1994, 1997; Потапенко и др., 2000). Генетическая природа различий между полученными линиями дрозифилы в значительной мере сводилась к разному соотношению в них мутаций, влияющих на жизнеспособность. Поскольку линии прошли одинаково длительный путь инбридинга, был сделан вывод о том, что инбредная депрессия определяется не столько инбридингом, сколько

характером и направлением отбора (Иовлева, Мыльников, 2007).

В нашем эксперименте наблюдаются сходные результаты. Отбор по способу размножения привел к снижению жизнеспособности полученных линий. В исследованных линиях № 140 и № 106 поколений I₄₀ и I₅₅ соответственно наблюдается значительный уровень полиморфизма. Поскольку оба поколения (I₄₀ и I₅₅) представлены высокоинбредными линиями, различающимися, однако, по уровню жизнеспособности, то разли-

Таблица 3

Изучение морфологической изменчивости в инбредных линиях при отборе на самофертильность

Поколение инбридинга	Число линий, <i>n</i>	Средняя самофертильность, % бобов с семенами	% самостерильных растений	% хлорофилльных мутантов	% морфологически измененных растений	Тип изменчивости
I ₀	–	18,5	14,5	–	–	–
I ₁₇	10	17,1	14,1	11,2	13,3	Форма и размер листьев, структура стебля
I ₄₀	32	28,2	9,9	3,2	50,6	Размер цветка
I ₅₅	7	8,4	35,9	1,4	69,4	Аномальное развитие частей растения

чия в характере рисунка амплифицированных фрагментов, наблюдаемые в этих поколениях, могут быть связаны с признаками глубины инбредной депрессии. Дальнейший анализ инбредных линий I₄₀ и I₅₅ позволит выявить конкретные гены, контролирующие самофертильность люцерны и характеризующие различную жизнеспособность.

Литература

- Гончаров П.Л., Лубенец П.А. Биологические аспекты возделывания люцерны. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. 255 с.
- Иовлева О.В., Мыльников С.В. Последствия отбора в высокоинбредных линиях дрозофилы // Генетика. 2007. Т. 43. № 10. С. 1328–1340.
- Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Иовлева О.В., Галкин А.П. Направленный характер генетических изменений при длительном отборе линий *Drosophila melanogaster* по адаптивно важным признакам // Генетика. 1994. Т. 30. № 8. С. 1085–1096.
- Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Галкин А.П. и др. Генетические эффекты дестабилизирующего отбора при селекции по адаптивно важным признакам в линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1997. Т. 33. № 8. С. 1102–1109.
- Квасова Э.В., Шумный В.К. Полиморфизм популяции люцерны по признакам системы размножения // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1983. № 15. Вып. 3. С. 94–99.
- Квасова Э.В., Шумный В.К. Изменчивость люцерны при глубоком инбридинге // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1986. №18. Вып. 3. С. 14–18.
- Лутова Л.А., Бондаренко Л.В., Бузовкина И.С. и др. Влияние генотипа растения на регенерационные процессы // Генетика. 1994. Т. 30. № 8. С. 1065–1074.
- Нарбут С.И. Генетическая коллекция инбредных линий редиса // Генетика. 1966. № 5. С. 89–100.
- Попов В.Н., Урбанович О.Ю., Кириченко В.В. Исследование генетического разнообразия инбредных линий подсолнечника методами RAPD и изоферментного анализа // Генетика. 2002. Т. 38. № 7. С. 937–943.
- Потапенко А.И., Рудаковская Е.Г., Кайданов Л.З., Акифьев А.П. Сравнительный анализ продолжительности жизни линий HA и BA *Drosophila melanogaster* // Изв. РАН. Сер. биол. 2000. № 3. С. 373–376.
- Bardacki F. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers // Turk. J. Biol. 2001. V. 25. P. 185–196.
- Diwan N., Bouton J.H., Kochert G., Cregan P.B. Mapping of simple sequence repeat (SSR) DNA markers in diploid and tetraploid alfalfa // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 101. P. 165–172.
- Matveeva T.V., Simonova A.V., Lutova L.A. Molecular markers of inbred radish (*Raphanus sativus* var. *Radicola* pers.) // Lines Cellular and Mol. Biol. Letters. 2002. V. 7. P. 845–848.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. CSHL Press: Cold Spring Harbor, 1989. 1659 p.

THE USE OF MOLECULAR MARKERS FOR POLYMORPHISM STUDY IN PERENNIAL ALFALFA POPULATIONS

S.E. Smolenskaya, E.V. Kvasova, O.E. Redina

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: oredina@bionet.nsc.ru

Summary

Molecular markers were used for comparative analysis of alfalfa *Medicago varia* Mart. genomes: Omskaya 192 and Marusinskaya 425 cultivars and two inbred lines N 140 (I₄₀) and N 106 (I₅₅) produced from Omskaya 192. Significant polymorphism of the amplified fragments has been demonstrated between Omskaya 192 and Marusinskaya 425 cultivars. The analysis of the inbred lines from I₄₀ and I₅₅ with the markers D12Rat4 and D8Rat81 revealed the high similarity of the amplified fragments in every line but the patterns differed between the lines. The similarity of the amplified fragments in I₄₀ and polymorphic pattern of bands in I₅₅ were observed while using the markers D11Rat87 and D6Rat107. The opposite effect was found in the two lines with the marker DXRat67. Both lines studied are highly inbred but they are known as the lines with different viability. The viability of I₄₀ lines was higher than that in I₅₅, but significantly higher level of the negative variability was observed in I₅₅ lines. The differences in the patterns of the amplified fragments are probably concerned with the inbreeding depression.

GENETIC COLLECTION AND DEVELOPMENT OF NEAR-ISOGENIC LINES IN DURUM WHEAT

N. Watanabe

College of Agriculture, Ibaraki University, 3-21-1 Chuo, Ami, Inashiki, Ibaraki 300-0393 Japan,
e-mail: watnb@mx.ibaraki.ac.jp

Genetic collections of tetraploid and hexaploid wheats were utilized to develop near-isogenic lines in durum wheat. The genes to be introduced were located on the specific chromosome and mapped to linkage maps using aneuploid stocks of LD222 and Langdon, Landgdon D-genome chromosome substitution lines, and microsatellite markers. We contributed mapping of the genes for long glumes on chromosomes 7AL and 7BL, genes for brittle rachis on chromosomes 3AS and 3BS and the gene for ligulelessness on chromosome 2BL. The mutant gene for sphaerococcoid grain, *s*¹⁶²¹⁹, was allelic to *S2*, which was located on the centromeric region of chromosome 3B in hexaploid wheat. The gene for compact spike, *C*¹⁷⁶⁴⁸ was located on the chromosome 5AL. Near-isogenic lines were developed for the GA-sensitive *Rht* genes, *Rht14*, *Rht16* and *Rht18*, on chromosome 6AS. The multiple alleles at the *Rht-B1* locus were introduced to cv. LD222. *Triticum polonicum* IC 12196 may be considered as new source of reduced height genes. Forty-one near-isogenic lines were developed. Twenty-nine donors of genes were from tetraploid wheat collection for near-isogenic lines, and 12 were from hexaploid wheat accessions for near-isogenic lines. The effort to develop near-isogenic lines was extended to introduce taxonomy-related traits such as spelt and awn on the glumes.

Key words: genetic collections, *Triticum durum*, near-isogenic lines, mutes, morphological traits.

Introduction

It is usually difficult to precisely determine the effects of specific genes on the plant performance, because these effects are usually limited and often influenced by the environment in which the plants are grown. However, these effects can be determined accurately using isogenic lines, which are not usually available in tetraploid wheat and it takes time to develop them. It is necessary to create the primary genetic collection and to study inheritance of individual traits for development of near-isogenic lines. In comparison with hexaploid wheat species, aneuploid analysis was not applied in tetraploid wheat until Joppa, Williams (1988) who made Langdon durum substitution lines. The establishment of a genetic collection in tetraploid wheat was restricted because the knowledge of inheritance of specific characters was scarce. Hence, the utilization of genetic collections of hexaploid wheat may be beneficial.

To develop near-isogenic lines in tetraploid wheat, the genes to be introduced were located on a specific

chromosome using aneuploid stocks of LD222 (Nishikawa, unpublished) and Langdon (Joppa, 1993), Landgdon D-genome chromosome substitution lines (Joppa, Williams, 1988). The linkage maps of these genes were developed using microsatellite markers (Röder *et al.*, 1998; Song *et al.*, 2005; Torada *et al.*, 2006). Simultaneously, the author incorporated several major genes into the genetic background of the spring durum wheat cultivar LD222. The author also paid attention to apply duplicate donors for the same traits, and to incorporate homoeologous loci and multiple alleles.

Materials and Methods

Genetic collection. The author assembled the mutants of durum wheat, such as sphaerococcoid mutant (Schmidt, Johnson, 1963) and chlorina mutants (Klindworth *et al.*, 1995), tetraploid wheat accessions whose characters were controlled by homoeologous genes, and accessions with key characters for botanical classification of tetraploid wheat species. The elongated glume character

from *Triticum polonicum* and *T. ispahanicum*, *tetraaristatus* (awn on the inner and outer glumes) trait from *T. carthlicum* and the branched spike trait from *T. turgidum* were considered. The chromosome substitution lines of Langdon-*T. dicoccoides* (Joppa, Cantrell, 1990) were also utilized. These accessions were used to incorporate the genes into *T. durum* cv. LD222.

Development of near-isogenic lines. A line of spring durum wheat, LD222 was used as a recurrent parent. The basic method to develop near-isogenic line was described in Watanabe (1994). The F₁ hybrids of LD222 and the donors were backcrossed with LD222. In each backcross generation, ten plants were grown to confirm the segregation ratio of 1 : 1 and to select heterozygous plants for dominant characters. The heterozygous plant was crossed with LD222 in each backcross generation. After six backcrosses, heterozygous B₆F₁ plants were selfed, and then homozygous plants with dominant characters were recovered from the B₆F₄ generation. For the recessive traits, the plants were selfed to confirm the presence of recessive trait, and the plants with recessive trait in the later generation were crossed with LD222.

The recombination, allelic relationship and mapping of genes to chromosomes. The genes to be introduced are located on the specific chromosome and mapped in the linkage maps using the aneuploid stocks and microsatellite markers. The linkage map and allelic relationship among genes were also considered.

Microsatellite mapping. Genomic DNA was extracted from seedling leaves from the individuals per F₂ populations according to Dellaporta *et al.* (1983). To map the genes we used the wheat *Xgwm*, *Xbarc* and *Xhbg* microsatellite markers. *Xgwm*, *Xbarc* and *Xhbg* microsatellite markers were available from Röder *et al.* (1998), Song *et al.* (2005) and Torada *et al.* (2006), respectively. PCR conditions were as followings (10 µl total volume): 1 µl of 1 × Standard Taq Reaction Buffer (New England BioLab. Inc.), 1 µl of 2 mM dNTPs, 0.96 µl of 37 % glycerol solution (w/w), 0.04 µl of Taq DNA Polymerase (5 units/ml; New England BioLab. Inc.), 2 µl of template DNA (50 ng/µl), 3 µl of the mixture of 0.2 µM each of the forward and reverse primers and 2 µl of sdH20. Amplification was carried out on a GeneAmp® PCR System 2700 (Applied Biosystems) running the following

program: 2 min at 94 °C; seven “touchdown” cycles of 15 s at 94 °C, 30 s at 63 °C, 15 s at 68 °C with a 1 °C drop in annealing temperature at each cycle; then 35 cycles of 15 s at 94 °C, 30 s at 55 °C, 15 s at 68 °C. Electrophoresis of PCR products was done in 10 % acrylamide gel at constant voltage (300 V). The running buffer used was 0.15 M Tris-Glycine (pH 8.8). Amplified fragments were detected by silver staining. Multipoint linkage values in centiMorgans (cM) were calculated using Map Manager QTX (<http://mapmgr.roswellpark.org/>). Minimum LOD scores of > 3.0 were used to develop the linkage map. The software calculated genetic distances in centiMorgans (cM) by applying the Kosambi (1944) mapping function.

Results

Table 1 shows the genetic collection and chromosomal location of the genes which were utilized to develop near-isogenic lines. The genes for black glume were closely linked with those for hairy glume and they were located on the distal part of chromosome 1AS. The genes for ligulelessness and non-glaucousness were located on the distal part of long and short arm of chromosome 2B, respectively. Although it was supposed that another recessive gene on chromosome 2A is necessary to determine the liguleless trait, the author did not find it in the genetic collection. Kosuge *et al.* (2008) confirmed that the mutant gene for sphaerococcoid grain, *s*¹⁶²¹⁹, was allelic to *S2*, which is located on the centromeric region of chromosome 3B in hexaploid wheat. Homoeologous gene *S3* on chromosome 3A was introduced from a hexaploid accession (Salina *et al.*, 2000) to LD222. The author found the homoeologous genes on group 3 chromosomes determined brittle rachis and red grains. The genes for brittle rachis were located using aneuploid stocks and microsatellite markers (Table 1).

Although homoeologous genes for blue grain have been found, it was difficult to introduce the gene on chromosome 4A from diploid species *Triticum boeoticum*. The blue grain gene on chromosome 4B was introduced from an alien introgression hexaploid line, UC66049 (Qualset *et al.*, 2005). The allelic variations in *Rht-B1* locus on chromosome 4B are contained in widely utilized semi-dwarf wheat cultivars (Worland, Sayers, 1995; Börner *et al.*, 1996). As shown in

Table 1

The genetic collections used as the donors to develop near-isogenic lines of LD222

Trait	Chromosomal location and donor		Reference
	A genome	B genome	
Black glume, hairy glume	1AS, <i>T. carthlicum</i> #521	–	Unpublished
Ligulelessness	–	2BL, <i>T. durum</i> k17769	Watanabe <i>et al.</i> , 2004
Non-glaucousness	–	2BS, <i>T. durum</i> k523	Unpublished
Spherical grain	3A, MS 1453	3B, MA16219, a mutant of <i>T. durum</i> cv. Altaiskaya Niva 3B, MSK 2454, a mutant of <i>T. aestivum</i> cv. Skala	Kosuge <i>et al.</i> , 2008 for MA16219, unpublished for MSK 2454
Brittle rachis	3AS, LDN (DIC 3A)	3BS, LDN(DIC 3B)	Watanabe, Ikebata, 2000; Watanabe, Imamura, 2002; Watanabe <i>et al.</i> , 2002b, 2005, 2006
Red grain	3AL, LDN (DIC 3A)	3BL, LDN (DIC 3B)	Watanabe, Ikebata, 2000
Blue grain	–	4BS, UC66049	Unpublished
Compact spike	5AL, MA17648, a mutant of <i>T. durum</i> Altaiskaya Niva	–	Kosuge <i>et al.</i> , 2008
Reduced height, GA-sensitive	6AS, <i>T. durum</i> Castelporziano, Edmore M1, Icaro	–	Present paper
Purple culm	–	7BS, CS (Hope 7B)	Unpublished
Chocolate black chaff	–	7BS, Vic CBC mutant	Watanabe, 1999
Chlorina	7AL, CDd6 mutant	7BL, CDd2 mutant	Klindworth <i>et al.</i> , 1997; Watanabe <i>et al.</i> , 1996; Watanabe, 1999
Long glume	7AL, <i>T. polonicum</i> #518	7BL, <i>T. ispahanicum</i> CL1120001	Watanabe <i>et al.</i> , 1996; Watanabe, 1999; Watanabe, Imamura, 2002; Watanabe <i>et al.</i> , 2002a

Table 2, we introduced seven multiple alleles to LD222. They differed in plant height, number of tillers, spike length and seed dormancy. *Triticum polonicum* IC 12196 may be considered as a new source of variation for semi-dwarfness (Watanabe, 2004). The assessments of characteristics of these near-isogenic lines are being progressed. The *Rht-B1b* allele reduced plant height and caused deep seed dormancy most severely, whereas *Rht-B1c* allele resulted weak, less number of tillers at the early stage of growing. The effects of other alleles

were similar to that of *Rht-B1b* (unpublished results).

Kosuge *et al.* (2008) found that the gene for compact spike, *C¹⁷⁶⁴⁸* was located on the chromosome 5AL. It should be noted that the gibberellic acid sensitively reduced height genes, *Rht14*, *Rht16* and *Rht18*, were induced independently. Castelporziano (*Rht14*) is a mutant of Cappeli. Edmore M1 (*Rht16*) was a mutant of Edmore. Icaro (*Rht18*) was derived from Anhinga. These genes were allelic to each other, and linked with

Table 2

Near-isogenic lines of durum wheat cultivar LD222

Chromosome	Code	Character	Allele	Donor	Source of donor
1	2	3	4	5	6
Chromosome 1A	ANW 1A	Black glume, hairy glume	<i>Bg, Hg</i>	<i>T. durum</i> var. <i>reichenbachii</i>	Gifu University, Japan
	ANW 1B	Black glume, hairy glume	<i>Bg, Hg</i>	<i>T. carthlicum</i> #521	Gifu University, Japan
	ANW 2A	Hairy glume	<i>Hg</i>	<i>T. durum</i> var. <i>melanopus</i> #513	Gifu University, Japan
	ANW 3A	Nonglauousness	<i>W11</i>	<i>T. durum</i> var. <i>pyramidale</i> #523	Gifu University, Japan
	ANW 3B	Nonglauousness	<i>w1</i>	AUS 2499	AWCC, Tamworth, Australia
	ANW 12A	Ligulelessness	<i>lg1</i>	A variant of cv. Marvroullos	Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia
Chromosome 3A	ANW 9A	Red grain	<i>R-A1b</i>	LDN (DIC 3A)	L.R. Joppa, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 10A	Brittle rachis	<i>Br2</i>	LDN (DIC 3A)	L.R. Joppa, USDA-ARS, North Dakota, USA
Chromosome 3B	ANW 11B	Sphaerococcoid	<i>S3</i>	MS 1453, a mutant of cv. Saratovskaya 29 ($2n = 42$)	ANIISKH, SB RAAS, Barnaul, Russia
	ANW 9B	Red grain	<i>R-B1b</i>	LDN (DIC 3B)	L.R. Joppa, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 10B	Brittle rachis	<i>Br3</i>	LDN (DIC 3B)	L.R. Joppa, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 11C	Sphaerococcoid	<i>S2</i>	MSK 2454, a mutant of <i>T. aestivum</i> cv. Skala ($2n = 42$)	ANIISKH, SB RAASs, Barnaul, Russia
	ANW 11D	Sphaerococcoid	<i>S^{1/6219}</i>	MA-16219, a mutant of <i>T. durum</i> cv. Altaiskaya Niva	ANIISKH, SB RAAS, Barnaul, Russia
	ANW 4A	Reduced height	<i>Rht-B1b</i>	<i>T. durum</i> cv. Cando C1tr17438	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
Chromosome 4B	ANW 4B	Reduced height	<i>Rht-B1c</i>	ANIL of <i>T. aestivum</i> cv. Maringa ($2n = 42$)	John Inne Centre, Norwich, UK
	ANW 4C	Reduced height	<i>Rht-B1d</i>	<i>T. aestivum</i> cv. Saitama 27	John Innes Centre, Norwich, UK
	ANW 4D	Reduced height	<i>Rht-B1e</i>	<i>T. aestivum</i> cv. Krasnodari Karlik1	A. Börner IPK-Gatersleben, Germany
	ANW 4E	Reduced height	<i>Rht-B1f</i>	<i>T. aethiopicum</i> W6824D	A. Börner IPK-Gatersleben, Germany
	ANW 4F	Reduced height	<i>Rht-B1h</i>	<i>T. polonicum</i> IC 12196	ICARDA, Aleppo, Syria

1	2	3	4	5	6
Chromosome 5A	ANW 4G	Reduced height	<i>Rht-B1f</i>	<i>T. aethiopicum</i> W6807C	A. Börner IPK-Gatersleben, Germany
	ANW 16H	Reduced height	<i>Rht 19</i>	<i>T. durum</i> Vic SD1 line b	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
	ANW 14A	Hairy peduncle	<i>Hp</i>	Hp-S615, an S615 NIL (2n = 42)	K. Tsunewaki, Kyoto University, Kyoto, Japan
	ANW 20A	Blue grain	<i>Ba2</i>	UC66049	C.O. Qualset, University of California, Davis, USA
	ANW 16C	Reduced height	<i>Rht 12</i>	Mv 17 (Karcagi 522 5A) (2n = 42)	J. Sutka, Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár, Hungary
	Chromosome 6A	ANW 22A	Compact spike	<i>C17648</i>	MA17648, a mutant of Altaiskaya Niva
ANW 16D		Reduced height	<i>Rht 14</i>	<i>T. durum</i> cv. Castelporziano PI 347731	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
ANW 16F		Reduced height	<i>Rht 16</i>	<i>T. durum</i> cv. Edmore M1 PI 499362	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
ANW 16G		Reduced height	<i>Rht 18</i>	<i>T. durum</i> cv. Icaro PI 503555	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
Chromosome 7A	ANW 5A	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. polonicum</i> var. <i>vestitum</i> #518	Gifu University, Japan
	ANW 5C	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. petropavlovskiyi</i> Maystrenko's line (2n = 42)	Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia
	ANW 5D	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. polonicum</i> var. <i>abyssinicum</i>	Gifu University, Japan
	ANW 5E	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. petropavlovskiyi</i> K44126 (2n = 42)	Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia
	ANW 5F	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. aestivum aestivum</i> PI 191834	NSGC, Aberdeen, Idaho, USA
Chromosome 7B	ANW 5G	Long glume	<i>PI</i>	<i>T. aestivum</i> AUS 20561	AWCC, Tamworth, Australia
	ANW 7A	Chlorina	<i>cn-A1d</i>	CDd6, a mutant of Langdon	N. D. Williams, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 5B	Long glume	<i>P2</i>	<i>T. ispananicum</i> CL1120001	John Innes Centre, Norwich, UK
	ANW 7B	Chlorina	<i>cn-B1b</i>	CDd2, a mutant of Langdon	N. D. Williams, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 6A	Purple culm	<i>Pc</i>	CS(Hope 7B)	N. D. Williams, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 13A	Chocolate black chaff	<i>cc</i>	Vic CBC mutant	N. D. Williams, USDA-ARS, North Dakota, USA
	ANW 8A	Yellow leaf	(digenic)	<i>T. durum</i> Yellow mutant	John Innes Centre, Norwich, UK
Unknown	ANW 11A	sphaerococcoid	(digenic)	Schmidt's sphaerococcoid mutant	Gifu University, Japan; Schmidt, Johnson (1963)

Note: ANIISKH : Altai Research Institute of Agriculture, SB RAAS, Barnaul, Russia. AWCC: Australian Winter Cereal Collection, Tamworth, Australia, ICARDA: International Center for Agricultural Research Center in the Dry Areas NSGC: National Small Grain Collections, Aberdeen, Idaho, USA.

Castelporziano / LD222 F₂ Edmore M1 / LD222 F₂ Icaro / LD222 F₂

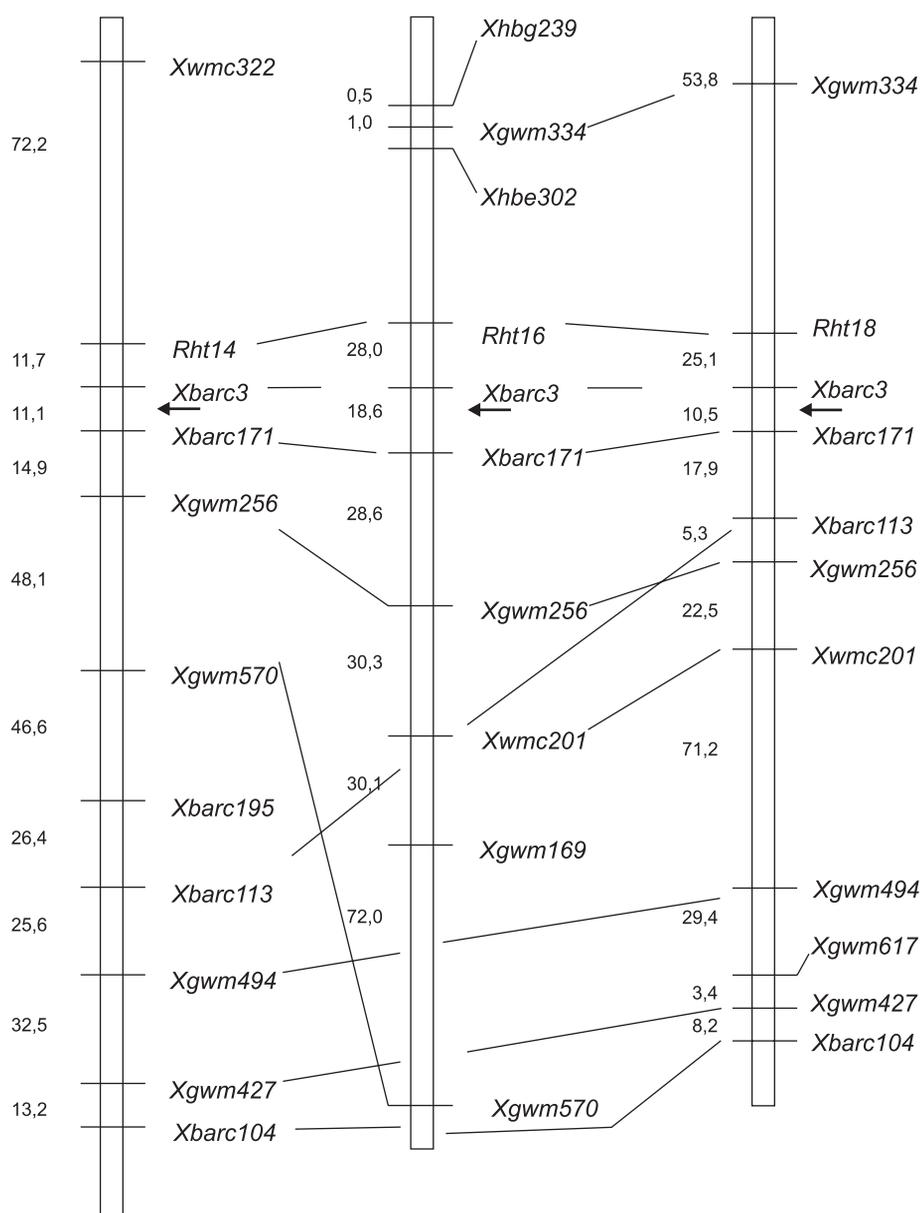


Figure 1. Linkage maps for *Rht14*, *Rht16* and *Rht18* genes on chromosome 6A. Arrows indicate the supposed position of centromere. Distances between the markers are shown in cM.

Xbarc3 on chromosome 6AS. Microsatellite mapping indicated that they were located at the same locus on the short arm of chromosome 6A (Fig. 1).

For homoeologous group 7 chromosomes, the genes (*P1* and *P2*) which determine elongated glumes were introduced from *T. polonicum* and

T. ispahanicum to LD222. Chlorina mutants were also determined by homoeologous genes on group 7 chromosomes (Klindworth *et al.*, 1995, Klindworth *et al.*, 1997). They were introduced to LD222. The genes for purple culm and chocolate black chaff on chromosome 7B were also introduced to LD222. Summarizing Table 1

and Table 2, the genes for 12 near-isogenic lines were transferred from hexaploid wheat. The donors of genes for 29 near-isogenic lines were from tetraploid wheat.

Discussion

The near-isogenic lines are not well utilized resources. They may be used to study variation in plant performance such as plant height, number of tillers, spike length and seed dormancy. The *Rht-B1b* allele encodes a mutant form of a DELLA protein, a gibberellic acid (GA) signalling repressor (Peng *et al.*, 1999). *Rht-B1b* allele is associated with a single base-pair change leading to a TAG stop codon. Variation among multiple alleles at *Rht-B1b* locus may suggest that there is nucleotide sequence polymorphism in the semi-dwarfing genes.

The author intended to use several different donors to develop near-isogenic lines. For the gene for long glume, this was successful because a tetraploid species *T. polonicum*, a hexaploid species *T. petropavlovskyi* and Portuguese landraces of *T. aestivum* have the long glume trait which is controlled by *P1* gene. The author has also found the homoeologous gene *P2* on chromosome 7B (Watanabe, 1999). As shown in Table 2, black glume and hairy glume traits were also derived from plural sources.

The genetic collection for the traits which were controlled by the genes on homoeologous chromosomes were for spherical grain, brittle rachis, red grain, long glume and chlorina. It must be said that they were scarce in tetraploid wheat. The effort to develop near-isogenic lines has been extended to introduce taxonomy-related traits such as spelt from *Triticum dicoccum*, tetraaristatus (awn on the glumes) from *Triticum carthlicum*, and the branched spike from *Triticum turgidum*.

References

- Börner A., Plaschke J., Korzun V., Worland A.J. Relationship between the dwarfing genes of wheat and rye // *Euphytica*. 1996. V. 89. P. 69–75.
- Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep: Version II // *Plant Mol. Biol. Rep.* 1983. V. 1. P. 19–21.
- Joppa L.R., Williams N.D. Langdon durum substitution lines and aneuploid analysis in tetraploid wheat // *Genome*. 1988. V. 30. P. 222–228.
- Joppa L.R., Cantrell R.G. Chromosomal location of genes for grain protein content of wild tetraploid wheat // *Crop Sci.* 1990. V. 30. P. 1059–1064.
- Joppa L.R. Chromosome engineering in tetraploid wheat // *Crop Sci.* 1993. V. 33. P. 908–913.
- Klindworth D.L., Williams N.D., Duysen M.E. Genetic analysis of *chlorina* mutants of durum wheat // *Crop Sci.* 1995. V. 35. P. 431–436.
- Klindworth D.L., Klindworth M.M., Williams N.D. Telosomic mapping of four genetic markers in durum wheat // *J. Hered.* 1997. V. 88. P. 229–232.
- Kosambi D.D. The estimation of map distances from recombination values // *Ann. Eugenics*. 1944. V. 12. P. 172–175.
- Kosuge K., Watanabe N., Kuboyama T. *et al.* Cytological and microsatellite mapping of mutant genes for spherical grain and compact spikes in durum wheat // *Euphytica*. 2008. V. 159. P. 289–296.
- Peng J., Richards D.E., Hartley N.M. *et al.* 'Green Revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators // *Nature*. 1999. V. 400. P. 256–261.
- Qualset C.O., Soliman K.M., Jan C.-C. *et al.* Registration of UC66049 *Triticum aestivum* blue aleurone genetic stock // *Crop Sci.* 2005. V. 45. P. 432.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. *et al.* A microsatellite map of wheat // *Genetics*. 1998. V. 149. P. 2007–2023.
- Salina E., Börner A., Leonova I. *et al.* Microsatellite mapping of the induced sphaerococcoid mutation genes in *Triticum aestivum* // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 100. P. 686–689.
- Schmidt J.W., Johnson V.A. A *sphaerococcum*-like tetraploid wheat // *Crop Sci.* 1963. V. 3. P. 98–99.
- Song Q.J., Shi J.R., Singh S. *et al.* Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 110. P. 550–560.
- Torada A., Koike M., Mochida K., Ogihara Y. SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2006. V. 112. P. 1042–1051.
- Watanabe N. Near-isogenic lines of durum wheat: their development and plant characteristics // *Euphytica*. 1994. V. 72. P. 143–147.
- Watanabe N. Genetic control of the long glume phenotype in tetraploid wheat by homoeologous chromosomes // *Euphytica*. 1999. V. 106. P. 39–43.
- Watanabe N. *Triticum polonicum* IC12196: a possible alternative source of GA3-insensitive semi-dwarfism // *Cereal Res. Commun.* 2004. V. 32. P. 429–434.
- Watanabe N., Fujii Y., Kato N. *et al.* Microsatellite mapping of the genes for brittle rachis on homoeologous group 3 chromosomes in tetraploid and hexaploid wheats // *J. Appl. Genet.* 2006. V. 47. P. 93–98.
- Watanabe N., Ikebata N. The effects of homoeologous group 3 chromosomes on grain colour dependent

- seed dormancy and brittle rachis in tetraploid wheat // *Euphytica*. 2000. V. 115. P. 215–220.
- Watanabe N., Imamura I. Genetic control of long glume phenotype in tetraploid wheat derived from *Triticum petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. // *Euphytica*. 2002. V. 128. P. 211–217.
- Watanabe N., Nakayama A., Ban T. Cytological and microsatellite mapping of the gene for liguleless phenotype in durum wheat // *Euphytica*. 2004. V. 140. P. 163–170.
- Watanabe N., Sekiya T., Sugiyama K. *et al.* Telosomic mapping of the homoeologous genes for the long glume phenotype in tetraploid wheat // *Euphytica*. 2002a. V. 128. P. 129–134.
- Watanabe N., Sugiyama K., Yamagishi Y., Sakata Y. Comparative telosomic mapping of homoeologous genes for brittle rachis in tetraploid and hexaploid wheat // *Hereditas*. 2002b. V. 137. P. 180–185.
- Watanabe N., Takesada N., Fujii Y., Martinek P. Comparative mapping of the genes for brittle rachis in *Triticum* and *Aegilops* // *Czech. J. Genet. and Plant Breed.* 2005. V. 41. P. 39–44.
- Watanabe N., Yotani Y., Furuta Y. The inheritance and chromosomal location of a gene for long glume in durum wheat // *Euphytica*. 1996. V. 90. P. 235–239.
- Worland A.J., Sayers E.J. *Rht1* (*B. dw*), an alternative allelic variant for breeding semi-dwarf wheat varieties // *Plant Breeding*. 1995. V. 114. P. 397–400.

МУТАНТНЫЙ ГЕНОФОНД ТОМАТА И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Н.И. Бочарникова

Россельхозакадемия, Москва, Россия, e-mail: otrasten@yandex.ru

Создание и сохранение идентифицированных генетических коллекций – это повышение эффективности селекционно-генетических исследований. Собранный коллекция мутантных форм томата является уникальным инструментом для решения теоретических и практических задач селекции (расширение спектра доступной генетической изменчивости; разработка методов гаметного (пыльцевого) отбора на устойчивость к абиотическим и биотическим факторам среды; введение в селекционные линии генов, контролируемых хозяйственно ценные признаки и т. д.).

Ключевые слова: томат, мутантный генофонд, селекционно-генетические исследования.

Проблема мобилизации растительных ресурсов особенно остро стоит для сельскохозяйственных регионов, неблагоприятных по почвенно-климатическим и погодным условиям (Жученко, 2001). Широкое использование генофонда растений в своих работах Н.И. Вавилов (1935) рассматривал как основной раздел генетических основ селекции. Важной и сложной задачей в использовании растительных ресурсов является создание генетических коллекций, идентифицированных доноров устойчивости растений к абиотическим и биотическим стрессорам. Однако до сих пор концепция и принципы организации таких коллекций остаются недостаточно разработанными. Более того, они недостаточно разработаны и в отношении мировых коллекций. Так, среди миллиона образцов, собранных в мировых коллекциях культурных растений, меньше 1 % имеют фенотипические характеристики (Жученко, 2004).

Создание и сохранение идентифицированных генетических коллекций является необходимым условием для повышения эффективности селекционно-генетических исследований. Крупные коллекции мутантов важнейших сельскохозяйственных культур созданы в Голландии, Германии, США и других странах. Однако «банки генов» не всегда представлены образцами с идентифицированными маркерными локусами, так как именно наличие значительного числа

генов, локализованных в разных хромосомах, отвечающих за морфологические, адаптивные и хозяйственные признаки, необходимо для проведения селекционно-генетических исследований. Одним из условий использования генетического потенциала культурных, полукультурных и диких видов томатов является разработка принципов создания коллекций, их правильная организация и классификация на группы, качественно отличающиеся по специфике источников и маркирования имеющейся генетической изменчивости.

Первые 6 рецессивных мутаций у томата были получены при облучении семян радием (Lindstrom, Humphrey, 1932), следующие 43 мутации – рентгеновскими лучами (McArthur, 1934). D. Barton (1954), обрабатывая пыльцу томата ультрафиолетовыми лучами, получил в F₂ 37 % мутантных растений. Большая работа по получению индуцированных мутантов была проведена Н. Stubbe (1965, 1971). Им получено и проанализировано в общей сложности более 300 мутантов культурного томата *Lycopersicon esculentum* Mill. и около 200 мутантов *L. esculentum* var. *pimpinellifolium*.

Широкое использование гибридизации и мутагенных факторов значительно увеличило число новых мутантов томата, что позволило к настоящему времени создать репрезентативные карты групп сцепления генов по всем

12 хромосомам (Tanksley, Mutschler, 1989). На сегодня известно 1027 маркеров с моногенным контролем (Report TGC, 2005), 323 гена локализованы в хромосомах; из них 234 картированы, а остальные 89 приведены под каждой хромосомной картой.

Так как томат является диплоидом ($2n=2x=24$), в его фенотипе можно четко идентифицировать мутации многих типов. Сорт Moglobe является стандартом, в сопоставлении с ним даются названия и присваивается символика мутациям.

Среди возделываемых растений томат – культура пластичная и легко размножается. Его можно успешно культивировать как в полевых, так и тепличных условиях. Много полезного материала для генетики томата дали селекционеры и наоборот фундаментальные исследования по генетике этой культуры способствовали значительным успехам в селекции культуры. Поэтому в селекционно-генетических исследованиях растений томат рассматривают в качестве модельного объекта.

Коллекция мутантных форм составляет часть генофонда культуры томата (рис. 1). В ней собраны и поддерживаются маркерные формы, насчитывающие более 500 образцов. Коллекция разбита на группы по проявлению маркерных признаков в онтогенезе (рис. 2).

Для селекционно-генетических исследований особый интерес представляют маркеры, проявляющиеся на ранних стадиях онтогенеза и влияющие на признаки сеянцев (окраска гипокотили, тип и окраска семядолей, форма первых листьев). Эти признаки уже видны на стадии семядолей или ко времени появления третьего настоящего листа.

Раннее проявление маркерных признаков, а также ограниченный вегетативный рост многих мутантов томата позволяет не только сократить период исследования, но и проводить опыты с большим числом растений на небольших площадях. По мнению Robinson, Rick (1954), различия в площадях питания томата таковы, что расщепления, которые требуют больших площадей при изучении признаков у взрослого растения, могут быть точно определены по признаку сеянца на небольшой площади. Кроме того, раннее проявление фенотипических признаков сеянца позволяет исследователю быстрее решать поставленные задачи.

Большое внимание исследователями уделяется маркерам, идентифицируемым на стадии семени и сеянцев. Установление коррелятивных связей между признаком, проявляющимся на стадии семян или сеянцев, и другими хозяйственно ценными признаками, обнаружить которые удастся только у взрослого растения, позволяет значительно ускорить селекционный процесс за счет отбора нужных генотипов на ранних стадиях. Например, ген *hp* контролирует сильную пигментацию, повышенное содержание хлорофилла, каротиноидов и аскорбиновой кислоты в плодах томата (Thompson, 1961). E. Kerr (1965) показал, что растения, несущие ген *hp*, при определенных условиях внешней среды различаются по розовой окраске гипокотили на стадии проростков. Выявленная корреляция позволила исключить биохимические анализы и ускорить отбор нужных генотипов по фенотипу уже на стадии проростков. В коллекции на ранней стадии проявления маркера имеется 68 образцов.

Ценным материалом для генетиков и селекционеров являются маркеры, контролирующие синтез антоциана, так как большинство из них не оказывают плейотропного действия и могут быть идентифицированы у всходов. Действие внешних факторов, особенно температуры, существенно влияет на количественное содержание антоциана у мутантов *al*, *atv*, *a* и ряда других. Так, по данным С.М. Rick (1956), высокая интенсивность света благоприятствует образованию у растений томата антоциановой окраски и появлению эпидермальных волосков. H. Stubbe (1963) показал, что отсутствие антоциана, полная или частичная недостаточность хлорофилла могут быть вызваны нарушением действия многих генов, влияющих на признаки на различных этапах их формирования. Например, проявление признака *cm* (curly mottled; пятнистые и сморщенные листья) может быть настолько сильно изменено под влиянием внешней и генотипической среды, что в одних случаях растения четко проявляют мутантный признак, в других не отличаются от нормальных растений.

Наряду с мутациями, идентифицируемыми на стадии сеянцев, выделяется группа генов, контролирующих рост и не влияющих непосредственно на структуру цветков и плодов. Таких мутантов в коллекции 219. Маркеры,



Рис. 1. Коллекция томатов с мутантными генами.

а – mut 01 (ген *Lpg*); б – mut 10 (ген *cm*); в – mut 18 (ген *La*); г – mut 19 (ген *Me*); д – mut 19- (ген *hl*); е – mut 20 (ген *Ln*); ж – mut 21 (ген *ven*); з – mut 23 (ген *alb*); и – mut 25- (ген *sl*); к – mut 26- (ген *mc*); л – mut 27- (ген *Cu*); м – mut 28- (гены *uv, coa, c*); н – mut 34 (ген *mult*); о – mut 35 (ген *fa*); п – mut 36 (ген *gs*); р – mut 38 (ген *u*); с – mut 42 (ген *p*); т – mut 43 (ген *bk*); у – mut 44 (гены *Wo, d, aw, c, m-2*); ф – mut 46 (гены *tf, wv*).

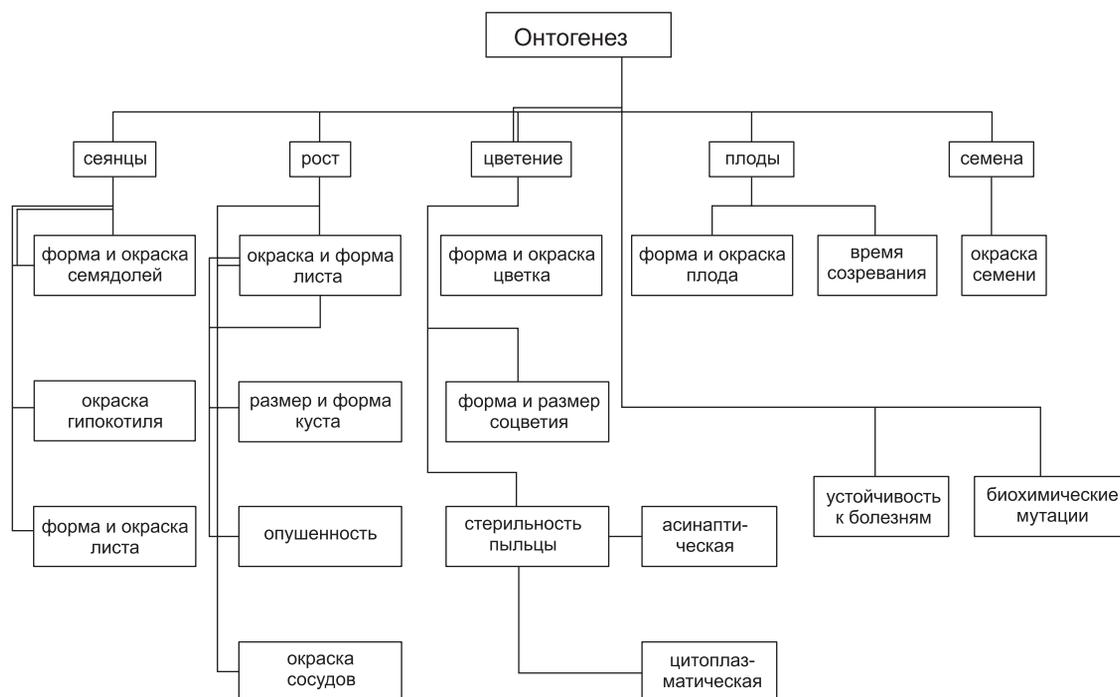


Рис. 2. Мутантная коллекция томата.

контролирующие признаки на этой стадии, отвечают за проявление таких характеристик, как окраска и форма листа, размер и форма куста, опушенность стебля и листьев, окраска сосудистой ткани корневой системы. К мутантам, проявляющимся на стадии роста, можно отнести и биохимические мутации, контролирующие синтез витаминов (*ten*, *tl*) и гормональных соединений (*flc*, *ga*). Гены, экспрессирующиеся на этой стадии, контролируют морфологические признаки растения. Наиболее частые отклонения связаны с признаками формы куста и листьев. Разнообразие по форме куста в основном связано с размером растения (*d*, *dmp*, *dpy*, *sp*, *dmd*), числом боковых побегов (*ls*), степенью разветвления (*atn*, *bu*, *cg*) и др. Вариации формы листа проявляются в изменении размера листовой пластинки относительно его длины, формы и степени перистости (*Me*, *Cu*, *La*, *c*, *cm*, *bip*, *cb-2*, *ics*).

Следующая группа маркеров отвечает за стадию цветка и соцветия. Таких образцов в коллекции 84. Имеются мутантные формы с очень разветвленными (*an*, *s*, *mult*, *mur*, *mux*) или уменьшенными соцветиями (*hg*, *di*), которые отличаются наличием листьев (*fa*, *epa*)

и меньшим числом цветков (*paf*, *bl*, *cjf*, *uf*). К ним следует отнести большую группу мутаций, вызывающих стерильность. Проявление этого признака наблюдается на разных этапах развития цветка: окраска пыльника, размер и форма пыльника, отсутствие или небольшое количество пыльцы, стерильность пыльцы. Проявление таких мутаций варьирует как от среды выращивания, так и от расположения кисти на растении.

В рассматриваемой коллекции имеется 24 мутанта, контролирующих такие признаки, как время созревания, форму и окраску плода. Цветовая гамма окраски плода очень разнообразна: имеются образцы с различными оттенками красного, желтого, фиолетового цвета, а также формы с полосами на плодах (*gs*). Маркеры *rin* и *nor*, контролирующие время созревания, представляют интерес для селекционеров.

Самая малочисленная группа в нашей коллекции – это мутанты, несущие гены, детерминирующие признаки на стадии семени. Эти гены контролируют бурую и коричневую окраску эндосперма семени (*bs*, *bs-2*).

На наш взгляд, большую ценность представляет также группа маркеров, контролирующих

устойчивость растений к болезням. Эти образцы интересны для селекционеров тем, что устойчивость к болезням можно передать от культурной формы томата, а не от дикого вида, устойчивость которого часто сцеплена с рядом нежелательных для селекции признаков.

Важную роль в цитогенетических исследованиях играют многомаркерные формы томата, несущие два и более генов, локализованных как в одной, так и в разных хромосомах. В коллекции таких образцов 154. Проявление признаков у многомаркерных линий наблюдается на одной или нескольких стадиях развития, варьирует в зависимости от сочетания генов в образце.

Идентифицированный мутантный генофонд дает возможность решать теоретические и практические задачи селекции. На примере культуры томата нами предлагаются возможные пути использования фенотипических маркеров в генетико-селекционных исследованиях.

Изучение биохимических и физиологических процессов

Физиолого-биохимическое изучение мутантов дает возможность получить данные о действии генов в онтогенезе, что в свою очередь позволяет понять многие важные этапы синтеза веществ, в том числе определяющих качество урожая.

На культуре томата исследования по биохимии и физиологии касаются в основном пигментных систем плода. По данным С. Rick, L. Butler (1956), на окраску плода томата влияют более 6 независимых генов: *at*, *B*, *moB*, *r*, *t*, *y*. Все эти гены, за исключением гена *y*, оказывают значительное влияние на состав каротиноидов и определяют цвет мякоти плода томата. Ген *B* был обнаружен у растений вида *L. hirsutum* Humb. et Bonpl., а затем у галапагосской формы *L. pimpinellifolium* (Rick, 1956). Присутствие факторов, повышающих концентрацию β -каротина в плодах томата, было обнаружено у растений *L. chilense* Dun., *L. peruvianum* Mill. и *L. glandulosum* C.H. Mull. McKinney соавт. (1954) установили, что растения *L. pimpinellifolium* Galapagos имеют оранжевые плоды и отличаются от обычного красноплодного *L. pimpinellifolium* высоким содержанием β -каротина. Т. Chmielewski (1962, 1966) показал,

что дикий вид *L. minutum* Rick содержит доминантный фактор, который при скрещивании с *L. esculentum* увеличивает концентрацию β -каротина в плодах томатов.

P. Wettstein-Knowles (1969) изучил мутации 12 локусов, влияющих на биосинтез антоцианов у томата. Гены *ag*, *al*, *Pn* обуславливают распределение пигментов в разных частях растения, а гены *af*, *ah*, *aw*, *bls*, по-видимому, контролируют промежуточные стадии синтеза антоцианов, так как у таких генотипов накапливаются флавоны или флавонолы. К изменению строения молекулы пигментов приводят мутации *a* и *ai*. В первом случае агликоновым компонентом антоциана является пеонидин, во втором – петунидин. У *ai*-мутантов в вакуолях клеток образуются пигментные глобулы, при этом ген *ai* влияет на распределение пигмента в клетках.

Составление генетических карт

Мутантный генофонд томата играет важную роль в установлении принадлежности вновь полученных мутантных генов к определенным группам сцепления, определении их расположения в плечах хромосом относительно центромеры и т. д.

Установление локализации генов в соответствующих хромосомах, составление полных карт хромосом той или иной культуры имеют большое значение в селекции, так как сила сцепления между разными генами в одной и той же хромосоме зависит от расстояния между ними. Ставя задачу разорвать сцепление двух генов, один из которых нежелателен, селекционер практически стремится обеспечить кроссинговер между ними. Зная расстояние между генами, можно заранее предвидеть результативность скрещивания, намечая наиболее эффективную селекционную схему для решения конкретных задач, а также планировать необходимый для этого объем выборки в гибридных поколениях.

Изучение наследования количественных признаков

Наличие большого числа разнесенных по картам хромосом и легко идентифицируемых фенотипически генов томата позволяет подойти

к изучению вопросов локализации блоков генов, контролируемых некоторыми количественными признаками с помощью известного метода сигналей, предложенного А.С. Серебровским (1970).

Для анализа количественных признаков культура томата является удобным объектом. Хорошо маркированные хромосомы представляют особенно большой интерес при изучении количественных признаков, и не случайно именно на 2-й хромосоме томата был впервые использован метод сигналей для изучения такого хозяйственно ценного признака, как скороспелость.

Контроль интрогрессии при межвидовой гибридизации

Известно, что культурный томат *L. esculentum* Mill. скрещивается со всеми дикими и полукультурными видами рода *Lycopersicon* Tourn., что дает возможность, используя в межвидовой гибридизации одно- и многомаркерные мутанты, изучить многие аспекты межвидовой гибридизации, в том числе индуцирование формообразовательного процесса, и на этой основе разработать надежные методы хромосомной и геномной инженерии, позволяющие переносить нужные фрагменты хромосом диких видов в геномы сортов-реципиентов.

Поскольку большинство видов рода *Lycopersicon* отличаются по многим признакам, использование многомаркерных мутантов открывает широкие возможности для исследования некоторых количественных признаков. Многомаркерные мутанты *L. esculentum* позволяют изучать передачу маркерных признаков при межвидовой гибридизации, степень кроссинговера, цитоплазматическое наследование, поведение маркерных генов или блоков генов одного вида в генетическом фоне другого.

Изучение эффекта дозы гена, взаимодействия аллелей и других явлений

Тетраплоидные и анеуплоидные растения (линии) томата дают возможность изучить влияние доз генов. Наряду с изучением явления «дозы гена» большой практический интерес представляет выяснение влияния взаимодействия аллелей разных мутантных генов на формирование различных (многих) признаков растений томата.

Использование мутантов в эволюционно-генетических исследованиях

Большая работа по решению эволюционно-генетических проблем, касающихся видов рода *Lycopersicon*, была проведена Н. Stubbe (1964). Используя экспериментальный мутагенез (обработка семян рентгеновскими лучами) на основе *L. pimpinellifolium*, он получил мутанты с признаками культурного сорта, проследив тем самым некоторые этапы эволюционного процесса перехода от дикой формы томата к культурной Н. Stubbe (1967, 1971). Затем, используя те же мутантные факторы и проведя обработку уже культурных сортов томата, он получил мутанты с признаками дикого вида *L. pimpinellifolium*. На основе этих данных Н. Stubbe (1971) установил, что параллельно с постепенным увеличением размера плода у растений томата происходили изменение величины вегетативных органов и приближение их по размерам и форме к *L. esculentum*, что может быть объяснено плейотропным эффектом аллелей, обуславливающих величину плода. В результате отбора в направлении мелкоплодности у мутантов *L. esculentum* были получены формы с мелкими плодами, сходные по форме с *L. pimpinellifolium*. На основании данных экспериментов Н. Stubbe (1965) сделал вывод, что при изучении экспериментально созданных мутаций можно получить представление о путях происхождения культурного томата от дикорастущей формы за счет последовательного накопления мутаций.

Использование мутантов в практической селекции

Получение и использование мутантов является дополнительным методом в селекционных программах сельскохозяйственных культур.

В настоящее время моногенные мутации все чаще используются в селекции в качестве новых источников зародышевой плазмы для улучшения сортов томата. При создании сортов с небольшими компактными кустами, пригодными для механизированной уборки, используются мутации *br*, *d*, *cpt* и др. Большое значение имеют мутантные гены *j*, *j-2*, *j-2^m*, обуславливающие отрыв плода от плодоножки.

Таблица 1
Синтезированные многомаркерные
формы томатов

Шифр мутанта в коллекции	Символы маркерных генов	Хромосомы
Мо 666 ¹	<i>Me, wv</i>	2, 2
Мо 670	<i>ltf, ig</i>	7, 7
Мо 672	<i>La, var</i>	7, 7
Мо 939	<i>var, ig</i>	7, 7
Мо 675	<i>La, var, ig</i>	7, 7, 7
Мо 938	<i>d, aw, wv</i>	2, 2, 2
Мо 667	<i>hl, a, La, var</i>	11, 11, 7, 7
Мо 668	<i>hy, h, exl, ah</i>	10, 10, 9
Мо 669	<i>Me, wv, hl, a</i>	2, 2, 1, 1, 11
Мо 671	<i>Cu, d, aw, wv</i>	2, 2, 2, 2
Мо 673	<i>h, exl, ah, Xa</i>	10, 9, 10
Мо 674	<i>rvt, vo, d, gf, sp, ltf</i>	1, 2, ,6, 7

Примечание. Мо – мутантный образец.

При создании компактных растений для теплиц используется синдром Baby Lea – генетически контролируемый комплекс совместно возникающих признаков.

В гибридном семеноводстве для создания материнских компонентов с мужской стерильностью используются мутанты *sl, ex, ps, ms*, а также маркеры *a, aw, e, c, bs*, позволяющие по фенотипическому проявлению различных аллелей контролировать чистоту гибридных семян.

В селекционных программах большое значение имеют мутантные гены, влияющие на процессы образования завязей у томата (*ste, s, vms, sl, as, ps, fms, j*). Осыпание цветков на первых кистях растений томатов обуславливают низкие ночные температуры, в то же время растения с геном *ft* могут завязывать плоды и при ночной температуре +4,5 °С (Kemp, 1966).

Изучение процесса селективной элиминации на постмейотических этапах

Важным подходом к увеличению эффективности селекционного процесса является снижение селективной элиминации рекомбинантов. Без учета уровня селективности в элиминации гамет, зигот, проростков невозможны объективные оценки мутагенной или рекомбиногенной

обработок, результатов гибридологического анализа (Жученко, 1980; 2001).

В литературе представлено очень мало данных по анализу селективной элиминации женских гамет и зигот. Это можно объяснить сложностью прямой оценки развития семяпочек на постсингамных этапах. I. Gadish (1987) изучал моногенное расщепление 7 изоферментных маркеров в потомстве F₁ гибридов и беккроссов межвидового гибрида *L. esculentum* × *L. pennellii* и установил селективность зиготического абортирования. Еще E. Anderson (1939) предположил, что естественный отбор гамет при межвидовой гибридизации является одним из факторов, ограничивающих рекомбинационную изменчивость. Затем Th. Dobzhansky (1946) на дрозофиле и G. Stebbins (1950) на растениях рассматривали гипотезу о возможной селективности в элиминации рекомбинантов.

Известно, что у межвидовых гибридов на этапах репродуктивного развития происходит значительная селективная элиминация гамет и зигот. Для культуры томата выделяют следующие этапы максимальной элиминации рекомбинантов: начало формирования мужского и женского гаметофитов, зрелая двуядерная пыльца, этап оплодотворения, эмбриогенез, прорастание семени (Жученко, Кравченко, 1982). Существует возможность значительного изменения вектора или уменьшения элиминации рекомбинантов на большинстве постмейотических этапов (микро и макроспорогенез, гаметогенез, зиготогенез, эмбриогенез, образование и развитие семян), а также расширение спектра доступной генетической изменчивости за счет повышения жизнеспособности, уменьшения уровня конкуренции, создания «комфортных» условий для развития рекомбинантных гамет и зигот (Кравченко и др., 1988). Согласно экспериментальным данным в потомстве межвидового гибрида с *L. hirsutum* var. *glabratum* возможен эффективный искусственный отбор на этапах эмбриогенеза устойчивых к температурному фактору рекомбинантов. Это обусловлено гибелью неустойчивых генотипов на стадии раннего эмбриогенеза за счет различных нарушений в образовании эндосперма (асинхронное деление ядер, формирование крупных полиплоидных ядер, отсутствие заложения перегородок между клетками эндосперма и др.),

что влияет на развитие зародыша (Жученко и др., 1981; 1984).

Такого рода подходы в использовании фенотипически проявляющихся генов-маркеров при достаточно хорошо изученном мутантном генофонде томата позволяют расширить область их применения в генетико-селекционных исследованиях.

Наибольший интерес в работе представляют многомаркерные мутанты с признаками, проявляющимися на ранних стадиях. Имеющиеся в коллекции сочетания признаков на этой стадии являются недостаточными для исследований, поэтому необходимо создавать новые сочетания маркерных генов как в пределах каждой хромосомы, так и в разных хромосомах. В наших исследованиях при синтезе различных цепочек маркеров (табл. 1) в основном использовались гены, контролирующие признаки, которые проявляются на стадиях семянцев и роста (окраска гипокотилия и семядолей, опушенность стебля, форма и окраска листьев). При подборе маркеров учитывается их расположение на хромосоме – прицентромерное или дистальное. Не все 12 хромосом томата маркированы генами, проявляющимися на этих стадиях. Поэтому приходится включать в синтез гены, контролирующие проявление признаков на других этапах онтогенеза. Наибольший интерес в этом плане представляет хромосома 2, в которой половина изученных мутантных генов проявляется на ранних стадиях развития растений томата.

Инбредированные в течение 3–4 поколений мутантные формы (табл. 1) можно использовать для индуцирования рекомбинаций, изучения генетической природы хозяйственно ценных количественных признаков и т. д.

Найдено оптимальное число маркеров в цепочке, проявляющихся на одной стадии, – 4, когда не теряется жизнеспособность растения, а также отсутствует плейотропный эффект. Возможны цепочки из 5 и более маркеров, но тогда они должны проявляться на поздних стадиях онтогенеза. Раннее проявление характерных черт фенотипа, а также ограниченный вегетативный рост многих мутантов томата позволяют не только сократить период исследования, но и проводить опыты с большим числом растений на небольших площадях.

Чем многообразнее коллекция маркерного генофонда, тем разнообразнее решаемые на ее основе генетические задачи. Многомаркерные мутанты дают возможность изучать проблемы межвидовой гибридизации, индуцирования формообразовательного процесса, а также играют важную роль в цитологических исследованиях томата.

Молекулярно-биологические исследования

В настоящее время для молекулярно-генетического анализа растительного генома наиболее широко используется метод полимеразной цепной реакции со случайными праймерами (RAPD). Результатом амплификации ДНК является спектр фрагментов, которые могут быть использованы в качестве генетических маркеров для построения генетических карт; видовой и сортовой идентификации, а также для определения филогенетических взаимоотношений между видами рода. RAPD спектры широко используются при маркировании сортов и линий. В последнее время достигнут значительный прогресс в молекулярном маркировании генома томата, начата его расшифровка.

RAPD реакцию проводили с праймером 2-60-1 (GAGTCTGTTCG), который позволил получить характерные RAPD спектры для образцов Мо 588 (маркирован геном *aa*); Мо 24 (маркирован геном *wv*); Мо 438 (маркирован геном *aw*); Мо 305 (маркирован генами *aw*, *wv*); Мо 755 (маркирован генами *wv*, *aa*, *d*); Мо 938 (маркирован генами *wv*, *aw*, *d*). Из представленных на рис. 2 результатов видно, что наряду с общими фрагментами (1400 п.н. и 300 п.н.) в RAPD спектрах некоторых генотипов появляются фрагменты с молекулярной массой 1100 п.н. для Мо 438 (*aw*), 1450 п.н. для Мо 938 (*wv*, *aw*, *d*) и 200 п.н. для Мо 755 (*wv*, *aa*, *d*), (см. рис. 3, дорожки 1, 3, 6), которые могут служить маркерами для этих мутантных линий. Обращает на себя внимание также отсутствие в RAPD спектрах Мо 588 (*aa*) мажорного фрагмента 900 п.н., который присутствует в спектрах остальных изученных мутантных линий (см. рис. 3, дорожка 4).

Используя RAPD метод для анализа образцов мутантной коллекции, возможно получать спектры амплифицированной ДНК, характери-

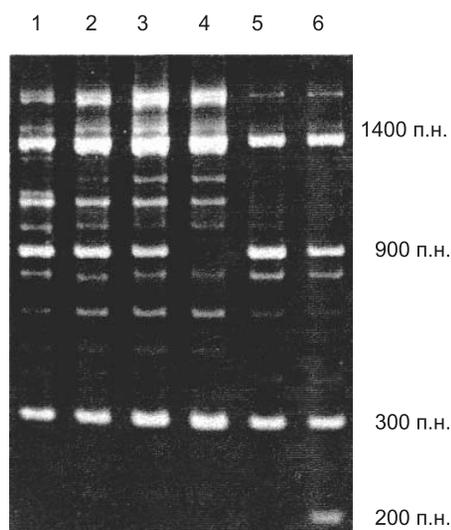


Рис. 3. RAPD анализ геномной ДНК различных мутантных линий томата с использованием праймера 2-60-1.

Дорожки: 1 – Мо438 (*aw*); 2 – Мо305 (*aw, wv*); 3 – Мо938 (*d, aw, wv*); 4 – Мо588 (*aa*); 5 – Мо24 (*wv*); 6 – Мо755 (*wv, aa, d*).

зующиеся уникальным набором фрагментов. Представленные данные показывают возможности совмещения RAPD технологии с оценкой по морфологическим маркерам, что позволяет успешнее получать характеристику рекомбинационной изменчивости у растений.

Таким образом, широкие возможности, открываемые в селекционно-генетических исследованиях использования мутантов, показывают, что мутантный генофонд, созданный в результате многолетней целенаправленной работы ученых из многих стран мира, представляет большую ценность и является инструментом в решении многих вопросов частной генетики данной культуры. В этой связи справедливо предложение В.В. Хвостовой о том, что нам «необходимо сохранить полученные мутанты и организовать в стране их всесоюзную коллекцию» (Хвостова, 1971. С. 255).

Литература

Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции растений. М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. Т. 1/2.
Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. Кишинев: Штиинца, 1980. 887 с.

- Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). Том I, II. М.: Агрорусс, 2001.
Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика). Том I, II. М.: Агрорусс, 2004.
Жученко А.А., Кравченко А.Н., Лях В.А. и др. Уменьшение элиминации рекомбинантов как эффективный метод селекции // Экологическая генетика растений и животных. Кишинев, 1981. Ч. 2. С. 199–208.
Жученко А.А., Кравченко А.Н. Цитологические проблемы селекции томатов // IV съезд ВОГиС. Кишинев, 1982. С. 133–134.
Жученко А.А., Кравченко А.Н., Суружиу А.И. и др. Действие стероидных гликозидов на процессы репродуктивного развития томатов // Экологическая генетика растений и животных. Кишинев, 1984. С. 169–170.
Кравченко А.Н., Лях В.А., Тодераш Л.Г. и др. Методы гаметной и зиготной селекции томатов. Кишинев, 1988. 47 с.
Серебровский А.С. Генетический анализ. М.: Наука, 1970. 311 с.
Хвостова В.В. Современное состояние исследований по экспериментальному получению и практическому использованию мутаций у с.-х. растений // Генетические основы селекции растений. М.: Наука, 1971. С. 224–259.
Anderson E.G. Recombination in species crosses // Genetics. 1939. V. 24. P. 668–698.
Barton D.W. Comparative effects of X-ray and ultraviolet radiation on the differentiated chromosomes of the tomato // Cytologia. 1954. V. 19. P. 157–175.
Chmielewski T. Cytogenetical and taxonomical studies on a new tomato form. Part. I. // Genetica Polonica. 1962. V. 3. P. 253–264.
Chmielewski T. An exception to the unidirectional crossability pattern in the genus *Lycopersicon* // Genetica Polonica. 1966. V. 7. P. 31–39.
Dobzhansky Th. Genetics of natural populations. XIII. Recombination and variability in populations of *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1946. V. 31. P. 269–290.
Gadish I. Differential zygotic abortion in an interspecific *Lycopersicon* cross. 1987. V. 29. P. 156–159.
Kemp G.A. Fruit set at low night temperatures // Report TGC. 1966. V. 16. P. 13.
Kerr E.A. Identification of high pigment hp tomatoes in seedling stage // Canad. J. Plant Sci. 1965. V. 45. P. 21–26.
Lindstrom E.W., Humphrey L.M. Comparative cytogenetic studies of tetraploid tomatoes from different origins // Proc. Intern. Cong. Genet. N.Y., 1932. 2. P. 118–119.

- McArthur J.W. Linkage groups in the tomato // J. Genet. 1934. V. 29. P. 123–133.
- Mc Kinney G., Rick C.M., Jenkins J.A. // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1954. V. 40. P. 659–699.
- Rick C.M. Genetic and systematic studies on accessions of *Lycopersicon* from the Galapagos Islands // Amer. J. Bot. 1956. V. 43. P. 687–696.
- Rick C.M., Butler L. Cytogenetics of the tomato // Heredity. 1956. V. 19. P. 8–20.
- Stebbins G.L. Variation and evolution in plants. N.Y., 1950. 643 p.
- Stubbe H. Mutanten der Kulturtomate *Lycopersicon esculentum* Miller. IV // Kulturpflanze. 1963. Bd. XI. S. 603–644.
- Stubbe H. Mutanten der Kulturtomate *Lycopersicon esculentum* Miller. V // Kulturpflanze. 1964. Bd. XII. S. 121–152.
- Stubbe H. Mutanten der Wildtomate *Lycopersicon pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. IV // Kulturpflanze. 1965. Bd. XIII. S. 517–544.
- Stubbe H. On the relationships between the spontaneous and experimentally induced form diversity and on some experiments on the evolution of cultivated plants. Induzierte Mutationen und ihre Nutzung. Erwin-Baur-Gedachtnisvorlesungen IV. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Klasse für Medizin. Jahrgang. 1967. Bd. 2. S. 99–121.
- Stubbe H. Weitere evolutionsgenetische Untersuchungen in der Gattung *Lycopersicon* // Biol. Zbl. 1971. Bd. 90. S. 545–559.
- Tanksley S.D., Mutschler M.A. Linkage map of the tomato (*Lycopersicon esculentum*) // Genetic Maps. 1989. P. 6.3–6.15.
- Thompson A.E. A comparison of fruit quality constituents of normal and high pigment tomatoes // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 1961. V. 78. P. 464–473.
- Wettstein-Knowles P. Mutations affecting anthocyanin synthesis in the tomato. 2. Physiology // Hereditas. 1969. V. 61. P. 255–275.

MUTANT TOMATO GENE POOL AND ITS USE IN GENETIC AND BREEDING PROGRAMS

N.I. Bocharnikova

Russian Academy of Agricultural Sciences, Moscow, Russia, e-mail: otrasten@yandex.ru

Summary

Establishment and preservation of the identified genetic collections increase the efficiency of genetic and breeding programs. The developed collection of mutant forms of tomato is a unique tool for solving theoretical and practical problems of selection (expansion of a spectrum of accessible genetic variability; development of the methods of pollen selection on stability to abiotic and biotic factors of environment; introduction into selected lines of the genes of valuable agronomic characters etc.).

ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА РЖИ В ГЕНОМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ МЕТОДОМ МЕЖГЕНОМНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ ХРОМОСОМ

О.Г. Силкова, А.И. Щапова, В.К. Шумный

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

В селекционных программах востребована передача генетического материала ржи в геном мягкой пшеницы. Метод межгеномного замещения хромосом остается наиболее перспективным из-за легкой скрещиваемости пшеницы с рожью, возможности более широкого привлечения гетерогенного генетического материала ржи, а также наличия молекулярно-цитологических методов паспортизации хромосом у полученных пшенично-ржаных форм. С использованием скрещивания *Triticum aestivum* L. сорт Саратовская 29 × *Secale cereale* L. сорт Онохойская создана коллекция замещенных линий 1R(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₂, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5D), 5R(5A), 6R(6A)₁ и 6R(6A)₂. Линии, полученные от скрещивания *T. aestivum* сорт Саратовская 29 с сортами ржи *S. cereale* Вятка и Вьетнамская местная были идентифицированы как 1Rv(1A), 5Rviet(5A) соответственно. В результате проведенных исследований по семенной продуктивности и реакции линий на засоление выделены линии 1Rv(1A), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃ как наиболее перспективные для передачи ценных признаков пшенице. Результаты, полученные при изучении поведения индивидуальных хромосом ржи и пшеницы в мейозе, позволяют прогнозировать способ передачи генетического материала ржи в геном пшеницы в виде сегментов и целых хромосом ржи.

Ключевые слова: пшенично-ржаные линии, межгеномное замещение хромосом, паспортизация геномов, селекционные программы.

Мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. возникла как самостоятельный вид в результате двух межвидовых скрещиваний, сопровождающихся удвоением числа хромосом (Feldman, Levy, 2005). В дальнейшем большое влияние на ее эволюцию оказала селекция на необходимые для человека качества, в частности, такого признака, как «легкая обмолачиваемость». Многолетняя селекция превратила пшеницу в вид с невысоким генетическим разнообразием по сравнению со своими дикими сородичами, которые имели более длительное время для эволюции и адаптации к естественным условиям произрастания. Генотипы диких видов часто несут гены устойчивости к биотическим (болезни и вредители) и абиотическим стрессам (жара и холод, засуха и засоление) и являются важным источником для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы.

В условиях современной сельскохозяйственной системы возделывания популярные

сорта пшеницы могут быть культивированы на обширных территориях благодаря своей высокой пластичности. Однако их довольно ограниченное генетическое разнообразие делает их уязвимыми для новых рас патогенов. С целью снижения такой уязвимости и расширения генетического разнообразия возделываемой пшеницы гены, контролируемые многие хозяйственно важные признаки, вводятся в мягкую пшеницу от диких видов с использованием возможности скрещиваемости пшеницы с родственными видами.

Рожь посевная *Secale cereale* L. является одним из видов, используемых в скрещиваниях с пшеницей благодаря ее высокой адаптивности. В результате скрещивания пшеницы с рожью в первой половине XX в. были получены несколько сортов, в геноме которых пара хромосом пшеницы 1В была замещена хромосомами ржи 1R. В дальнейшем кариотипы ряда сортов претерпели преобразования – возникли транс-

лоцированные хромосомы 1BL.1RS (Zeller, 1973). Другие транслокации в сортах были обнаружены позднее, в них были включены хромосомы 1AL.1RS и 1DL.1RS (Shepherd, 1973; Zeller, Fuchs, 1983). На сегодняшний день в кариотипах почти 300 высокопродуктивных сортов мягкой пшеницы, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды, обнаружены хромосомы 1BL.1RS (Rabinovich, 1998). Сорта, имеющие в своем геноме короткое плечо 1RS, занимают значительно большие посевные площади, чем те, которые имеют в своем кариотипе иные пшенично-чужеродные транслокации (Lukaszewski, 1990; Vanuelos *et al.*, 1998; Villareal *et al.*, 1998). Короткое плечо ржаной хромосомы 1R – наиболее широко используемый чужеродный хроматин в селекции пшеницы (Friebe *et al.*, 1996). Вместе с тем в геноме португальского сорта пшеницы местной селекции *Barbella*, выращиваемого на протяжении многих лет и характеризующегося повышенной устойчивостью к стрессовым факторам среды, обнаружен хроматин ржи, включенный в хромосому пшеницы 2D (Riberio-Carvalho *et al.*, 2001).

Получение высокопродуктивных сортов пшеницы с помощью передачи в ее геном генетического материала ржи путем межгеномного замещения хромосом показало целесообразность проведения работ по направленному созданию пшенично-ржаных замещенных форм. Метод получения замещенных форм стал более эффективным с применением цитологической идентификации хромосом. Дифференциальный метод окраски хромосом ржи по Гимза был разработан в 1974 г. (Щапова, 1974; Vosa, 1974; Gill, Kimber, 1974a), а затем был предложен вариант С-метода окраски для хромосом пшеницы (Gill, Kimber, 1974b). С-окрашивание позволило цитологически идентифицировать каждую хромосому ржи и пшеницы и установить их принадлежность к определенной гомеологической группе.

С помощью С-окрашивания был детально изучен процесс стабилизации кариотипов пшенично-ржаных гибридов (Shchapova, Kravtsova, 1982; Shchapova *et al.*, 1984). В результате этих исследований было установлено, что пшенично-ржаные гибриды F₁, полученные от скрещивания гексаплоидной пшеницы *Triticum aestivum* с диплоидной рожью *Secale cereale*, иногда

завязывают зерна от самоопыления. Кариологический анализ показал, что большинство этих амфиплоидов содержат неполный набор хромосом как пшеницы, так и ржи. Размах изменчивости по общему числу хромосом у этих растений составил 49–56, а у жизнеспособных гамет 22–27, из них 16–21 хромосом пшеницы и 5–7 хромосом ржи. Нуллисомия на каждый гаплоидный геном оказалась равной 0,25–1,50.

Вследствие анеуплоидии гамет пшенично-ржаных гибридов F₁ в потомстве этих гибридов после беккросса пшеницей формируются пшенично-ржаные замещенные формы, у которых одна и реже две гомологичные пары хромосом пшеницы замещены гомеологичными хромосомами ржи. Процесс стабилизации этих гибридов заканчивается в 5–7-м поколениях. На основании этих результатов была предложена схема создания пшенично-ржаных замещенных форм с идентификацией их с помощью С-окрашивания (рис. 1).

При использовании данной схемы создана коллекция пшенично-ржаных замещенных линий по различным хромосомам ржи и пшеницы. Методами телоцентрического анализа: GISH, С-окрашивания (рис. 2) и SSR-анализа охарактеризован их хромосомный состав (табл. 1).

Эти линии идентифицированы как 1R(1A), 1R(1D), 1Rv(1A), 2R(2D)₁, 2R(2D)₂, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5D), 5R(5A), 5Rviet(5A), 6R(6A)₁ и 6R(6A)₂. Изучение мейоза у созданных линий показало их высокую цитологическую стабильность (Силкова и др., 2006, 2007). Количество бивалентов на клетку у всех линий, кроме

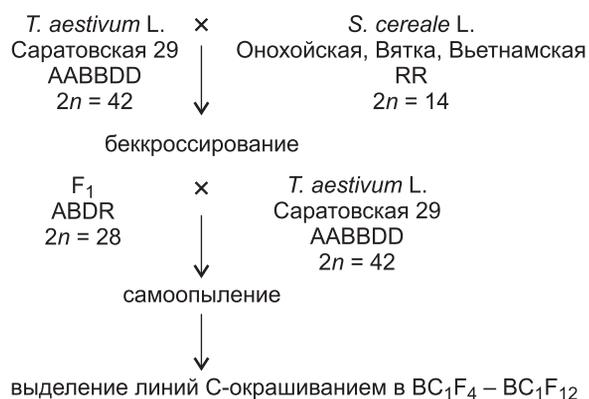


Рис. 1. Схема создания пшенично-ржаных замещенных линий (из: Щапова, Кравцова, 1990).

3R(3B), достоверно не отличалось от количества у исходного сорта пшеницы Саратовская 29. У линии 3R(3B) наблюдался асиноптический эффект, вызванный отсутствием хромосомы пшеницы 3B, однако наблюдаемый у этой линии асинопсис не приводил к нестабильности в передаче хромосомы ржи 3R через гаметы.

С целью возможного использования замещенных линий в селекционном процессе были оценены семенная продуктивность и переносимость линиями различной концентрации соляного раствора на стадии прорастания зерновок. Семенная продуктивность была изучена при выращивании каждой линии в трех повторностях в течение двух вегетаций (2005 и 2006 гг.) (табл. 2). По таким показателям, как число зерен и масса зерен с главного колоса, линии 3R(3B) и 5Rviet(5A) оказались достоверно менее продуктивными, чем сорт Саратовская 29, в то время как масса 1000 зерен у линий с замещением по хромосомам 2R–2R(2D)₁ и 2R(2D)₃ достоверно превосходила сорт.

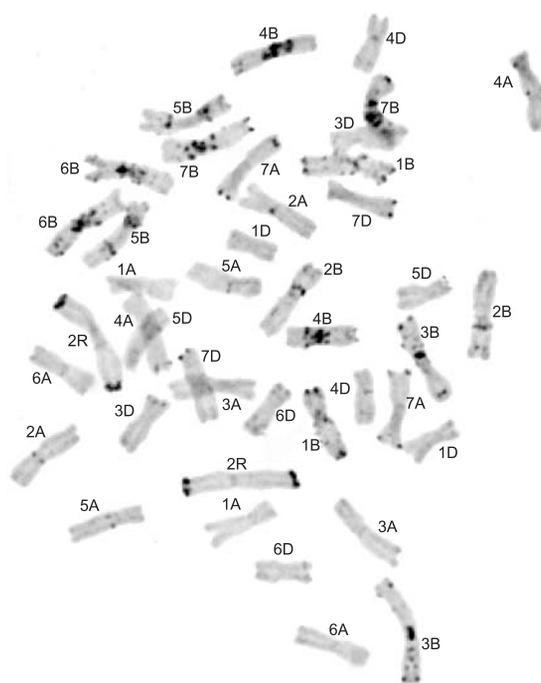


Рис. 2. С-окрашивание кариотипа пшенично-ржаной замещенной линии 2R(2D)₁ (из: Силкова и др., 2006).

Таблица 1

Молекулярно-цитологический анализ пшенично-ржаных замещенных линий
(из: Силкова и др., 2006, 2007)

Линии	Телоцентрический анализ	С-окрашивание	GISH	SSR-анализ
<i>Triticum aestivum</i> L. сорт Саратовская 29/ <i>Secale cereale</i> L. сорт Онохойская				
1R(1A)	1R(1A)	1R(1A) (3DS.3DLdel и 4AL.W)	40W+2R	1R(1A) (амплификация маркеров плеч 3DL и 4AS)
1R(1D)	–	1R(1D)	40W+2R	1R(1D)
2R(2D) ₁	2R(2D)	2R(2D)	40W+2R	2R(2D) ₁
2R(2D) ₂	–	2R(2D)	40W+2R	2R(2D) ₂
2R(2D) ₃	–	2R(2D)	40W+2R	2R(2D) ₃
3R(3B)	–	3R(3B)	40W+2R	3R(3B)
5R(5D)	5R(5D)	5R(5D)	40W+2R	5R(5D)
5R(5A)	–	5R(5A)	40W+2R	5R(5A)
6R(6A) ₁	6R(6A)	6R(6A)	40W+2R	6R(6A) ₁
6R(6A) ₂	–	6R(6A)	40W+2R	6R(6A) ₂
<i>Triticum aestivum</i> L. сорт Саратовская 29/ <i>Secale cereale</i> L. сорт Вятка				
1Rv(1A)	–	1R(1A)	40W+2R	1R(1A)
<i>Triticum aestivum</i> L. сорт Саратовская 29/ <i>Secale cereale</i> L. сорт Вьетнамская местная				
5Rviet(5A)	–	5R(5A)	40W+2R	5R(5A)

Примечание. W – хромосомы пшеницы, R – хромосомы ржи; v – сорт Вятка, viet – сорт Вьетнамская местная.

Таблица 2

Озерненность главного колоса и масса 1000 зерен у пшенично-ржаных замещенных линий (Новосибирск, 2005 и 2006 гг.)

Линия	Год	Число изученных растений	Число зерен с главного колоса	Масса зерен с главного колоса, г	Масса 1000 зерен, г
1R(1A)	2005	196	34 ± 0,71	1,06 ± 0,0025	28,55
	2006	228	32 ± 0,83	0,88 ± 0,005	23,05
1R(1D)	2005	165	33 ± 0,87	1,01 ± 0,06	26,99
	2006	188	32 ± 0,78	0,89 ± 0,05	22,83
1Rv(1A)	2005	137	38 ± 0,41	1,02 ± 0,03	25,23
	2006	184	32 ± 0,88	0,75 ± 0,04	20,04
2R(2D) ₁	2005	222	28 ± 0,46	0,92 ± 0,027	39,7**
	2006	179	29 ± 0,95	0,84 ± 0,05	33,73**
2R(2D) ₂	2005	166	29 ± 0,37	0,94 ± 0,02	28,24
	2006	166	32 ± 0,85	0,95 ± 0,05	24,76
2R(2D) ₃	2005	168	31 ± 0,99	1,09 ± 0,07	31,96**
	2006	176	34 ± 1,25	0,95 ± 0,06	27,45**
3R(3B)	2005	223	20 ± 0,66*	1,02 ± 0,065	16,28*
	2006	–	–	–	–
5R(5D)	2005	229	26 ± 0,72	0,65 ± 0,027	22,32
	2006	176	27 ± 0,71	0,67 ± 0,03	20,29
5R(5A)	2005	163	33 ± 0,61	0,97 ± 0,03	26,97
	2006	176	31 ± 1,18	0,74 ± 0,05	20,74
5Rviet (5A)	2005	168	12 ± 0,68*	0,31 ± 0,02*	24,69
	2006	–	–	–	–
6R(6A) ₁	2005	151	31 ± 1,27	0,94 ± 0,047	27,25
	2006	184	27 ± 0,99	0,68 ± 0,05	21,29
Саратовская 29 (контроль)	2005	152	31 ± 0,58	0,97 ± 0,035	26,46
	2006	252	30 ± 0,77	0,81 ± 0,04	21,81

* Значения достоверно ниже контроля при $P \geq 0,001$; ** значения достоверно выше контроля при $P \geq 0,001$; v – сорт Вятка, viet – сорт Вьетнамская местная.

Предварительная оценка солеустойчивости проведена в трех повторностях по 9-балльной системе (табл. 3) при проращивании по 15 зерен каждой линии при 20 °С и 12-часовом фотопериоде (Mano *et al.*, 1996). Оценка переносимости линий различной концентрации солевого раствора на стадии прорастания зерновок позволила выявить устойчивые и чувствительные к засолению генотипы (табл. 4).

Все линии за исключением двух, 3R(3B) и 5Rviet(5A), характеризовались большей толерантностью к условиям засоления по сравнению с родительскими формами. Наиболее ярко по полученным результатам выделились три линии, 3R(3B) и 5Rviet(5A) оказались восприимчивыми к NaCl достоверно больше, чем

сорт Саратовская 29 и рожь сорта Онохойская, а 2R(2D)₁ – достоверно устойчивее.

Показано, что две линии, 2R(2D)₁ и 2R(2D)₃, с разными хромосомами ржи 2R сорта Онохойская различаются по устойчивости к условиям засоления. Данное различие особенно проявилось при прорастании зерен при концентрации раствора NaCl 1,5 % и 2 % (табл. 4).

Согласно балльной классификации по устойчивости растений к засолению (концентрация соляного раствора 2 %), линии (сорты), соответствующие 3 или 4 баллам, относятся к умеренно устойчивым, 5–6 баллам – устойчивым, а 1–2 баллам – к восприимчивым (Mano *et al.*, 1996). Из этих результатов следует, что линия 2R(2D)₁ умеренно устойчива к соли.

Таблица 3
Система определения устойчивости к засолению у пшеницы на стадии прорастания зерновок (из: Mano *et al.*, 1996)

Балл	Характеристика прорастания зерновок
0	Отсутствие прорастания
1	Наличие одного корня
2	Наличие двух корней или большее количество корней с коричневыми чехликами
3	3 и более корней, нормальное развитие корней
4	Наличие проростка длиной менее 10 мм зеленого цвета
5	Наличие проростка длиной от 10 до 25 мм
6	Первый лист выше coleoptilya на 1 см
7	Первый лист выше coleoptilya на 3 см
8	Первый лист выше coleoptilya на 6 см
9	Первый лист выше coleoptilya более чем на 6 см

Полученные данные предполагают возможность использования пшенично-ржаных замещенных линий в селекционных программах по мягкой пшенице. Однако для более эффективной передачи хозяйственно ценных

признаков необходимы выяснение закономерностей поведения чужеродных хромосом в мейозе пшенично-ржаных гибридов и изучение характера передачи хромосом ржи через гаметы пшенично-ржаных анеуплоидных форм в последующие поколения.

Введение хромосомы ржи в геном пшеницы путем скрещивания с замещенными линиями приводит к анеуплоидии как для хромосомы ржи, так и для ее пшеничного гомеолога (рис. 3, а). Хромосома, находясь в унивалентном состоянии, не имеет возможности делиться, распадаться к полюсам и включаться в гаметы, как это происходит при наличии гомолога. В первом делении мейоза унивалентная хромосома может подвергнуться эквационному делению – делению на сестринские хроматиды (рис. 3, б), что может привести к разрыву хроматид в районе центромеры во втором делении мейоза, в результате чего возникают различного рода транслоцированные хромосомы, либо хроматиды, теряя связь с полюсами, остаются не включенными во вновь образованные ядра.

В селекционных программах отдают предпочтение формам с транслоцированными хромосомами с небольшой вставкой чужеродного хроматина. Получение такого рода материала

Таблица 4
Характеристика линий по их устойчивости к различным концентрациям засоления

Линии, исходные формы	Оценка прорастания зерен по баллам в воде и при различных концентрациях раствора NaCl, %			
	Вода	1 %	1,5 %	2 %
Саратовская 29	8,53 ± 0,52	3,16 ± 0,76	1,57 ± 0,16	0,12 ± 0,05
1R(1A)	8,6 ± 0,29	6,42 ± 0,21	1,75 ± 0,32	1,9 ± 0,12*
1R(1D)	8,5 ± 0,41	7,08 ± 0,48	3,07 ± 0,4	1,41 ± 0,11*
1Rv(1A)	8,72 ± 0,13	7,71 ± 0,21	4,53 ± 0,35	1,79 ± 0,13*
2R(2D) ₁	8,6 ± 0,2	6,88 ± 0,41	4,11 ± 0,73	3,71 ± 0,26*
2R(2D) ₃	8,85 ± 0,21	7,25 ± 0,51	2,12 ± 0,34	1,72 ± 0,27*
3R(3B)	8,18 ± 0,4	0,78 ± 0,36	0,42 ± 0,42	0,015 ± 0,004**
5R(5D)	8,85 ± 0,2	6,4 ± 0,41	3,12 ± 0,41	1,57 ± 0,16*
5R(5A)	8,52 ± 0,14	6,17 ± 0,45	2,92 ± 0,21	1,58 ± 0,32*
5Rviet(5A)	8,29 ± 0,33	1,41 ± 0,51	0,445 ± 0,1	0,05 ± 0,007**
6R(6A)	8,61 ± 0,22	5,15 ± 0,53	4,21 ± 0,12	1,31 ± 0,23*
Рожь Онохойская	8,64 ± 0,23	5,39 ± 0,92	2,23 ± 0,47	0,62 ± 0,11

* Значения достоверно выше, чем у исходных сортов при $P \geq 0,001$; ** значения достоверно ниже, чем у исходных сортов при $P \geq 0,001$; v – сорт Вятка, viet – сорт Вьетнамская местная.

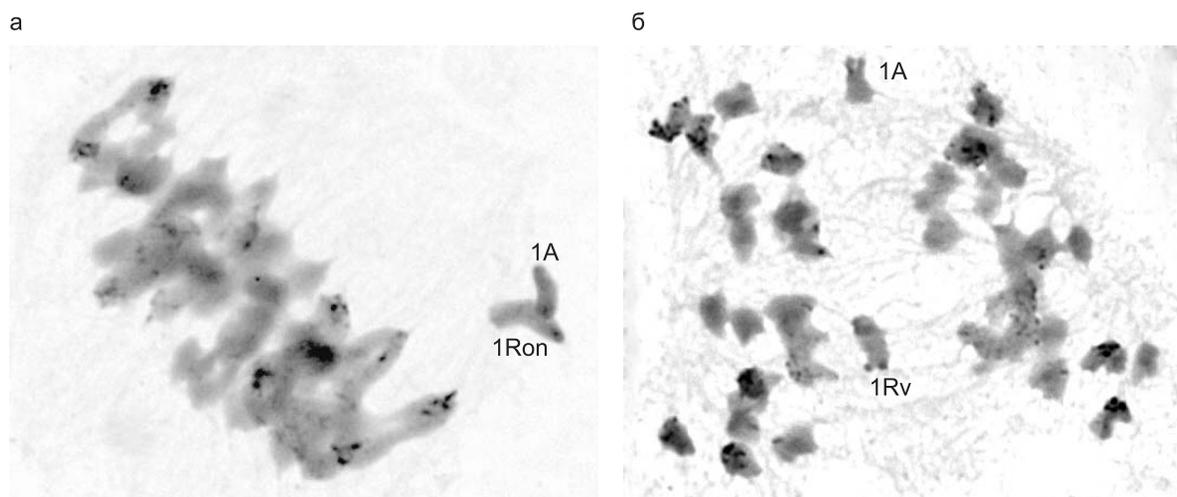


Рис. 3. С-окрашивание хромосом в первом делении мейоза у димносомиков.

а – метафаза I у димносомика 1Rop-1A; б – анафаза I – биполярная ориентация хромосом 1Rv и 1A, предшествующая делению на сестринские хроматиды.

можно проводить поэтапно. Возможность деления унивалентных хромосом ржи и пшеницы на сестринские хроматиды в AI, а затем разделение хроматид на плечи в AII целесообразно использовать для получения пшенично-ржаных Робертсоновских транслокаций. Как показали наши исследования, хромосомы ржи 1R сорта Вятка и 5R, 6R сорта Онохойская делятся на хроматиды в AI в более чем 70 % клеток (Силкова и др., 2008), что предопределяет образование большого количества транслокаций, более того, показано, что хромосома ржи 5R индуцирует эквационный тип деления унивалентной хромосомы пшеницы в мейозе димносомиков (Щапова и др., 1995). Передача хромосом ржи может сопровождаться образованием различного рода транслокаций (Дубовец и др., 2005). В потомстве димносомиков 5D-5R у 56,25 % изученных растений выявлены транслокации хромосомы 5R: изохромосомы по короткому плечу T5RS.5RS, хромосомы с крупной делецией длинного плеча T5RS.5RL-del. Показано, что генотип данных растений обуславливает разрывы по центромере (misdivision) и нецентрическую активность хромосомы 5R. В дальнейшем для получения различных по размеру вставок чужеродного хроматина можно использовать гаметоцидную систему, как это было сделано при диссекции хромосомы ржи 1R в геноме мягкой пшеницы (Tsuchida *et al.*, 2008), либо

использовать в скрещивании мутанты пшеницы *ph1b* (Sears, 1983). Вместе с тем при стабилизации пшенично-ржаных гибридов возможно спонтанное образование транслоцированных хромосом без участия гаметоцидной системы, как это было показано при идентификации хромосом линии 1R(1A), в кариотипе которой обнаружены хромосомы 3DS.3DL-del. и 4AL.W (Силкова и др., 2006).

В данной работе выявлены линии с замещением 1Rv(1A), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃ как наиболее перспективные по продуктивности и устойчивости к засолению для использования их в селекционных программах. Ранее проведенные исследования мейоза показали, что можно прогнозировать образование Робертсоновских транслокаций с участием хромосомы 1Rv сорта Вятка в последующих поколениях (Силкова и др., 2008), как это произошло с известной хромосомой 1R, внедренной в геном большого числа сортов пшеницы от сорта ржи Петкус (Rabinovich, 1998). Этого нельзя сказать о хромосоме ржи 2R, характеризующейся преобладанием редукционного деления и, следовательно, хорошо передающейся в поколения и не способной образовывать транслокации. Следовательно, для введения данной хромосомы в сорта пшеницы не требуется в качестве обязательного условия осуществления ее рекомбинации с хромосомами пшеницы. Дальнейшее

изучение поведения хромосом ржи и пшеницы в мейозе покажет, что, вероятно, наравне с созданием транслоцированных хромосом пшеницы с небольшими вставками хроматина ржи, размеры которого трудно определить для соблюдения всех требований к будущему сорту (передача устойчивости с одновременным сохранением высокой урожайности и качества зерна), можно будет осуществлять передачу целых хромосом ржи либо их плеч путем получения Робертсоновских транслокаций. Многолетнее возделывание сортов пшеницы с транслоцированными хромосомами 1BL.1RS, 1AL.1RS и 1DL.1RS показывает высокую компенсационную способность короткого плеча хромосомы ржи 1RS.

Таким образом, пшенично-ржаные замещенные линии с проведенной идентификацией хромосом, с изучением эффекта замещения и установлением хромосомной локализации гена, контролирующего интересующий селекционера признак, являются ценным источником для селекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Динамика генофондов и биоразнообразие» и федеральной целевой программы РФ (Госконтракт 02.512.11.2256).

Литература

- Дубовец Н.И., Силкова О.Г., Щапова А.И. и др. Особенности трансмиссии унивалентной хромосомы 5R через гаметы димносомика 5D-5R // Информ. вестник ВОГиС. 2005. Т. 9. № 4. С. 495–498.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Создание пшенично-ржаных замещенных линий с идентификацией хромосомного состава кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 793–802.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Получение пшенично-ржаных замещенных линий на основе озимых сортов ржи с идентификацией кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2007. Т. 43. № 8. С. 1149–1152.
- Силкова О.Г., Перемыслова Е.Э., Щапова А.И., Шумный В.К. Генетическая регуляция деления центромерных районов унивалентных хромосом ржи и пшеницы в анафазе I мейоза ди-моносомиков // Генетика. 2008. Т. 44. № 1. С. 85–93.
- Щапова А.И. Дифференциальная окраска хромосом у растений I. *Secale cereale* L. // Цитология. 1974. Т. 16. С. 370–372.
- Щапова А.И., Кравцова Л.А. Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов. Новосибирск: Наука, 1990. 164 с.
- Щапова А.И., Силкова О.Г., Кравцова Л.А. Роль хромосом пятой гомеологической группы пшеницы и ржи в регуляции эквационного деления унивалентов // Генетика. 1995. Т. 31. № 3. С. 390–395.
- Banuelos O., Mujeeb-Kazi A., Rajaram S. Agronomic performance of chromosome 1B and 1BL.1RS near-isolines in the spring bread wheat Seri M82 // Euphytica. 1998. V. 103. P. 195–202.
- Feldman M., Levy A.A. Allopolyploidy – a shaping force in the evolution of wheat genomes // Cytogenet. Genome Res. 2005. V. 109. P. 250–258.
- Friebe B., Jiang J., Raupp W.J. et al. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status // Euphytica. 1996. V. 91. P. 59–87.
- Gill B.S., Kimber G. The Giemsa C-banding karyotype of rye // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1974a. V. 71. P. 1247–1249.
- Gill B.S., Kimber G. Giemsa C-banding and evolution of wheat // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1974b. V. 71. P. 4086–4090.
- Lukaszewski A.J. Frequency of 1RS.1AL and 1RS.1BL translocations in United States wheats // Crop Sci. 1990. V. 30. P. 1151–1153.
- Mano Y., Nakazumi H., Takeda K. Varietal variation in and effects of some major genes on salt tolerance at the germination stage in barley // Breeding Sci. 1996. V. 46. P. 227–233.
- Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. 1998. V. 100. P. 323–340.
- Riberio-Carvalho C., Guedes-Pinto H., Heslop-Harrison J.S., Schwarzacher T. Introgression of rye chromatin on chromosome 2D in the Portuguese wheat landrace «Barbela» // Genome. 2001. V. 44. P. 1122–1128.
- Sears E.R. The transfer to wheat of interstitial segment of alien chromosomes // Proc. 6th Intern. Wheat Genet. Symp. Kyoto, Japan, 1983. P. 5–12.
- Shchapova A.I., Kravtsova L.A. The production of wheat-rye substitution lines by using the Giemsa staining technique // Cereal Res. Commun. 1982. V. 1/2. P. 33–39.
- Shchapova A.I., Potapova T.A., Kravtsova L.A., Numerova O.M. Karyotype stabilization in intergeneric hybrids of the subtribe Triticinae. I. The effect of genome structure // Theor. Appl. Genet. 1984. V. 68. P. 289–296.
- Shepherd K.W. Homoeology of wheat and alien chro-

- mosomes controlling endosperm protein phenotypes // Proc. 4th Intern. Wheat Genet. Symp. Columbia, Missouri, USA. 1973. P. 745–760.
- Tsuchida M., Fukushima T., Nasuda S. *et al.* Dissection of rye chromosome 1R in common wheat // Genes Genet. Syst. 2008. V. 83. P. 43–53.
- Villareal R.L., Banuelos O., Mujeeb-Kazi A., Rajaram S. Agronomic performance of chromosome 1B and T1BL.1RS near-isolines in the spring bread wheat Seri M82 // Euphytica. 1998. V. 103. P. 195–202.
- Vosa C.G. The basis karyotype of rye (*Secale cereale* L.) analyzed with Giemsa and fluorescence methods // Heredity. 1974. V. 33. P. 403–408.
- Zeller F.J. 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations // Proc. 4th Intern. Wheat Genet. Symp. Columbia, Missouri, USA, 1973. P. 209–221.
- Zeller F.J., Fuchs E. Cytology and disease resistance of a 1A/1R and some 1B/1R wheat-rye translocation cultivars // J. Plant Breed. 1983. V. 90. P. 285–296.

TRANSFER OF RYE GENETIC MATERIAL INTO THE COMMON WHEAT GENOME BY INTERGENOMIC CHROMOSOME SUBSTITUTION

O.G. Silkova, A.I. Shchapova, V.K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

Summary

Rye genetic material is an important reservoir for transfer into the common wheat genome. The intergenomic chromosome substitution approach remains promising, because of good crossability of wheat with rye relative, feasibility of involvement of the heterogeneous rye agronomic potential, also because of the availability of molecular-cytogenetic methods for the passportisation of chromosomes in the developed wheat-rye lines. Based on the cross (*Triticum aestivum* L. cultivar Saratovskaya 29 × *Secale cereale* L. cultivar Onokhoiskaya) × *T. aestivum* L. cultivar Saratovskaya 29 we have established a collection of substitution lines with identified chromosomal constitution 1R(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₂, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5D), 5R(5A), 6R(6A)₁, and 6R(6A)₂. Based on the cross (*Triticum aestivum* L. Saratovskaya 29 × *Secale cereale* L. cultivars Vyatka and Vietnamskaya Mestnaya) × *Triticum aestivum* L. Saratovskaya 29 we have established substitution lines 1Rv(1A) and 5Rviet(5A), respectively. We have analyzed the grain yield of these lines and their tolerance to salinity. We have identified 1Rv(1A), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃ as promising lines for transmission of desirable agronomic traits of wheat. In our previous experiments, we have demonstrated how the types of division and segregation of rye and wheat chromosomes may affect their transmission to subsequent generations. The results of our studies on the behavior of individual rye and wheat chromosomes in meiosis allowed us to differentially predict how the rye material may be transmitted into wheat genome, as a translocated rye chromosome or as an entire rye chromosome.

СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ АНЕУПЛОИДНЫХ И ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Т.Т. Ефремова, Л.И. Лайкова, В.С. Арбузова, О.М. Попова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: efremova@bionet.nsc.ru

Представлены данные о генетической коллекции моносомных и дителосомных линий мягкой пшеницы по двум сортам Саратовская 29 и Диамант 2, полученных в ИЦиГ СО РАН. На основе моносомных линий созданы наборы с межсортовым и чужеродным замещением отдельных хромосом или их фрагментов, с привлечением в качестве доноров различных сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. и представителей других таксономических групп (*Secale cereale* L., *Aegilops tauschii* Coss., *Triticum timopheevii* Zhuk.). Наборы анеуплоидных и замещенных линий, а также серии анеуплоидных линий сорта Chinese Spring, полученных Э. Сирсом, используются для изучения генетических эффектов отдельных хромосом на проявление хозяйственно важных признаков, локализации и картирования генов. Особое внимание уделено разработке и оценке эффективности использования методов целенаправленного и ускоренного переноса отдельных хромосом или их участков, несущих желаемые гены от родственных видов и сортов в геном мягкой пшеницы.

Ключевые слова: мягкая пшеница, анеуплоиды, коллекция, локализация генов.

В Институте цитологии и генетики СО РАН создана и поддерживается в живом состоянии коллекция анеуплоидных и замещенных линий мягкой пшеницы, которая с успехом используется для локализации генов, определяющих адаптивные и хозяйственно ценные признаки. Начало этим исследованиям положили пионерские работы проф. Э. Сирса, который получил различные по числу хромосом анеуплоидные линии: полные наборы моносомных, дителосомных, нулли-тетрасомных, тетрасомных, трисомных линий по сорту Chinese Spring (CS) (Sears, 1954). Им были разработаны новые цитогенетические методы анализа генома мягкой пшеницы с использованием различных типов анеуплоидов. Для хромосомной локализации генов наиболее широко применялся моносомный анализ. С использованием ди- и монотелосомных линий проводят локализацию с точностью до плеча хромосомы. Наиболее значительные успехи в локализации генов мягкой пшеницы и других представителей трибы Triticinae были достигнуты с помощью нулли-тетрасомного анализа. Современные молекулярно-генети-

ческие карты пшеницы были составлены с участием нулли-тетрасомных и дителосомных линий сорта CS, которые являются удобным инструментом для локализации молекулярных маркеров на хромосомах. После получения первых анеуплоидных линий были начаты работы по созданию межсортовых и чужеродных замещенных и дополненных линий от желательных доноров. В мире известны полные серии моносомных линий, созданные на других сортах, в том числе на 14 сортах в России и странах СНГ (Worland, 1988), большое число линий с замещением и добавлением целых хромосом или их фрагментов, линий с транслокациями (Shchapova, Kravtsova, 1982; Rabinovich, 1998; Friebe *et al.*, 2001).

В нашей стране это цитогенетическое направление начиная с 1966 г. развивала О.И. Майстренко. Основным научным вкладом проводимых ею исследований является практическая реализация возможностей моно- и дителосомного анализа для локализации новых генов с их последующим картированием с помощью молекулярных маркеров, что является основой

для построения насыщенных генетических и физических карт хромосом. А также использование разнообразия анеуплоидных и замещенных линий для установления генетической связи отдельных хромосом с ценными признаками.

В статье представлены данные о генетической коллекции анеуплоидных, замещенных, интрогрессивных и изогенных линий мягкой пшеницы и результаты, полученные с их использованием, позволившие установить влияние отдельных хромосом на проявление ряда хозяйственно важных признаков, а также локализовать и картировать отдельные гены.

Коллекция моносомных и дителосомных линий по сортам Саратовская 29 и Диамант. С использованием анеуплоидных линий сорта CS, полученных Э. Сирсом, были созданы полные серии моносомных ($2n = 41$) и дителосомных ($2n = 40 + 2t$) линий по двум сортам мягкой пшеницы – Саратовская 29 (С29) и Диамант 2 (Дм2) (Майстренко, 1973а; Лайкова и др., 1988), всего более 200 линий. Поддержание и использование анеуплоидных линий в генетическом анализе связано с выполнением трудоемких цитологических методов, требующих длительных усилий со стороны исследователей. Необходимы постоянный и тщательный цитологический анализ каждого растения с подсчетом числа хромосом при пересеве линий, изоляция отдельных колосьев с целью предотвращения переопыления. Кроме того, необходима периодическая проверка смены унивалента и телоцентрической хромосомы во избежание ошибок в определении нумерации хромосом. В настоящее время разработаны современные молекулярно-генетические методы анализа, открывающие новые возможности для точной и быстрой идентификации отдельных хромосом или любого плеча мягкой пшеницы и гомеологичных чужеродных хромосом. Так, с помощью молекулярных маркеров проведена проверка нулли-тетрасомных и дителосомных линий сорта CS и установлено наличие хромосомных aberrаций для некоторых линий (Devos *et al.*, 1999).

В настоящее время моносомные линии стали реже использоваться в генетическом анализе. Поэтому остро стоит вопрос об их сохранении. К несомненным достижениям этого цитогенетического направления можно отнести хромосомную локализацию генов на основе моносомного

анализа и картирование генов относительно центромеры с использованием дителосомных линий. В результате более 300 генов мягкой пшеницы локализованы в определенных хромосомах, а примерно для одной трети из них установлено местоположение по отношению к центромере (McIntoch *et al.*, 2006). В ИЦиГ СО РАН проведена хромосомная локализация около 20 генов, отвечающих за морфологические признаки и адаптацию пшеницы (табл. 1), сведения о некоторых внесены в «Каталог генных символов пшеницы».

Исследование ряда ценных генов-маркеров определенных хромосом проводится с участием почти изогенных линий сорта мягкой пшеницы С29. Генетическая коллекция представлена 16 изогенными линиями по морфологическим признакам с известной хромосомной локализацией (Arbuzova *et al.*, 1998). Изогенные линии являются удобной моделью для изучения влияния генов на агрономические признаки, анализа взаимодействия генов на общем генетическом фоне. Кроме того, они являются наиболее подходящей моделью для молекулярного картирования генов. Так, микросателлитные маркеры были использованы для картирования ранее локализованной на хромосомах 3 гомеологической группы генов *S1*, *S2* и *S3*, контролирующей округлую форму зерновок у индуцированных мутантов (Maystrenko *et al.*, 1998). Эти гены были локализованы в прицентромерных областях хромосом 3A, 3B и 3D (Salina *et al.*, 2000). Для генов пурпурной окраски спелого зерна *Pp1* и *Pp2* была уточнена локализация на хромосомах 7BL и 2AL соответственно (Dobrovolskaya *et al.*, 2006).

Коллекция замещенных и интрогрессивных линий мягкой пшеницы. Ценным результатом исследований, выполненных с помощью анеуплоидов, оказалась разработка методов замещения и добавления определенных хромосом желательных донорских сортов мягкой пшеницы и ее сородичей (Unrau *et al.*, 1956; Law, Worland, 1973). Нами разрабатываются новые подходы, направленные на ускоренное создание внутривидовых и чужеродных замещенных линий по определенным хромосомам от сортов и видов-доноров. Для этого на основе почти изогенных линий С29 получены моносомные линии этого сорта с введенными маркерными

Таблица 1

Хромосомная локализация генов, проведенная с использованием моносомных, дителосомных и почти изогенных линий сортов Саратовская 29 и Chinese Spring

Ген	Хромосома	Признак	Автор
<i>Vrn-A1</i>	5A	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1973б
<i>Vrn-B1a</i>	5B	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1992
<i>Vrn-B1b</i>	5B		
<i>Vrn-D1</i>	5D	Отзывчивость на яровизацию	Майстренко, 1973б
<i>Pc2</i>	7DS	Антоциановая окраска стебля	Maystrenko, Laikova, 1995
<i>Egl(P)</i>	7A	Удлиненные чешуи колоса	Майстренко, неопуб. данные
<i>S1, S2, S3</i>	3D, 3B, 3D	Округлая форма зерновки	Maystrenko <i>et al.</i> , 1998
<i>Pp1</i> и <i>Pp2</i>	7BL и 2AL	Пурпурная окраска перикарпа зерновки	Dobrovolskaya <i>et al.</i> , 2006
<i>Pa</i>	4BL*	Наличие ресничек на ушках листового влагалища	Майстренко, 1992
<i>Hl</i>	4BL*	Опушение листовой пластинки	Майстренко, 1976
<i>Pan1</i>	7DS	Фиолетовая окраска пыльников	Maystrenko, Laikova, 1995
<i>Rg3</i>	1AS	Красная окраска колоса	Efremova <i>et al.</i> , 1998
<i>Fr1</i> и <i>Fr2</i>	7DL и 7BS	Реакция растений на дефицит железа	Майстренко, 1992

* После 7-го Международного генетического симпозиума по пшенице (Кембридж, 1988) хромосома 4A была переобозначена как 4B.

генами от различных сортов пшеницы, а также от *Secale cereale* L., *Triticum polonicum* L., *T. petropavlovskyi* Udach. et Migusch. Использование генов, контролирующих морфологические признаки растения и обладающих дозовым эффектом, позволяет выделить по фенотипу моносомные растения без проведения постоянного цитологического анализа. Так, получены моносомные чужеродные линии пшеницы сорта С29 с хромосомой 5R ржи, в которой локализован ген *Hr* (опушенная колосоножка), тем самым стало возможным контролировать замещение по хромосомам 5 гомеологической группы. Моносомники сорта С29, маркированные мутантными генами *S1*, *S2* и *S3*, контролирующими комплекс признаков сферококкоидности, позволяют проводить замещение и по хромосомам 3-й гомеологической группы. Хромосома 7A моносомной линии сорта С29 маркирована геном *P(Egl)*, который детерминирует наличие удлиненных чешуй колоса у видов *T. polonicum* и *T. petropavlovskyi*. Наличие полных серий моносомных линий, а также моносомников, маркированных морфологическими признаками, позволило авторам создать 130 линий с межсортовым и чужеродным замещением

отдельных хромосом или их плеч по двум сортам-реципиентам С29 и Дм2, в том числе полную серию замещенных линий С29/Янетцкис Пробат и большой набор замещенных линий по хромосомам 5-й гомеологической группы. Кроме того, получены 6 замещенных линий Дм2/Новосибирская 67 по хромосомам 1-й и 6-й групп на их основе – линия с одновременным замещением двух хромосом 1A и 6D.

При создании замещенных линий возможны ошибки, связанные со сменой и переключением унивалента. Поэтому в отсутствие надежных генетических маркеров необходима проверка корректности замещения хромосом сорта-реципиента на хромосому сорта-донора. Для этих целей использовали микросателлитный (SSR) анализ, на основе которого провели проверку полной серии замещенных линий С29/Янетцкис Пробат и было показано ошибочное замещение для трех линий (Pestsova *et al.*, 2000). Также проверены 20 линий по сорту С29 с межсортовым замещением хромосом 5A и 5D, для которых установлена точность замещения хромосом сорта-реципиента на хромосому сорта-донора (Efremova *et al.*, 2006a). Таким образом, с помощью SSR-анализа удалось идентифицировать

набор замещенных линий пшеницы С29, что позволило в дальнейшем использовать их для установления эффектов отдельных хромосом на выраженность изучаемых признаков.

Кроме того, в коллекцию входят 12 пшенично-ржаных замещенных линий с участием хромосомы 5R яровой ржи сорта Онохойская. В каждой линии хромосома 5A сортов-реципиентов замещена гомеологичной хромосомой 5R ржи (Efremova *et al.*, 2006b).

Получены интрогрессивные линии пшеницы сорта С29 с комплексной устойчивостью к бурой, стеблевой ржавчинам и мучнистой росе (рис. 1). В качестве донора иммунитета использовали амфидиплоид *Triticum timopheevii* Zhuk. × *Aegilops tauschii* Coss. (syn. *Ae. squarrosa* L.) (GGAADD). Эта синтетическая пшеница сочетает все ценные признаки диких видов и имеет одинаковый с мягкой пшеницей уровень плоидности ($2n = 42$), что облегчает передачу чужеродного материала при скрещивании. Отбор иммунных линий сорта С29 проводили в естественных условиях и инфекционном фоне в разных экологических зонах – Казахстане, Новосибирской и Омской областях (Лайкова и др., 2004а). Для уточнения локализации и размера фрагментов генома *T. timopheevii* и/или *Ae. tauschii* у иммунных линий пшеницы С29 использовали микросателлитные маркеры. Проанализировано 9 интрогрессивных линий

BC5–9, обладающих устойчивостью к бурой ржавчине и мучнистой росе, и выявлены участки интрогрессии генома синтетической пшеницы в прицентромерной зоне хромосом 2-й гомеологической группы, особенно хромосом 2D и 2В. У ряда линий показано наличие транслоцированных фрагментов в хромосомы 1D, 5B, 5D, 6B и 7D (Leonova *et al.*, 2007).

Изучение влияния отдельных хромосом злаков на комплекс хозяйственно ценных признаков

Влияние разных аллелей гена *Vrn-B1* на время колошения. В хромосомах 5A, 5B и 5D мягкой пшеницы локализованы доминантные гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*, влияющие на тип развития (яровость–озимость) и время колошения. На основе изучения замещенных линий по хромосоме 5A сортов-реципиентов С29 и Дм2 на таковые озимых сортов-доноров Миrowsкая 808, Скороспелка 35, Ульяновка установлено наличие двух аллелей: *Vrn-B1a* (сорт С29) и *Vrn-B1b* (сорт Дм2) в локусе *VRN-B1* (Майстренко, 1992). Показано, что колошение у линий, несущих наиболее сильный аллель *Vrn-B1a*, наступает на 10–14 дней раньше, чем у носителей слабого аллеля *Vrn-B1b*. Необходимо отметить, что исследование множественного аллелизма гена *Vrn-B1* было про-

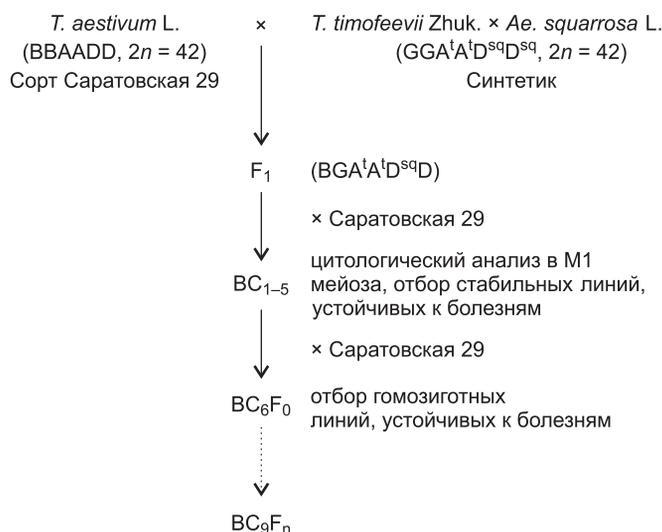


Рис. 1. Создание иммунных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к мучнистой росе и бурой и стеблевой ржавчинам (Лайкова и др., 2004а).

ведено на генетическом фоне двух сортов-реципиентов С29 и Дм2 в отсутствие доминантного гена *Vrn-A1*. Для экспериментальной проверки полученных результатов созданы 2 замещенные линии пшеницы озимого сорта Sava по хромосоме 5B и 2 почти изогенные линии озимого сорта Безостая 1 с доминантным геном *Vrn-B1* (Efremova *et al.*, 2008). Яровой тип развития полученных замещенных и изогенных линий определяется моногенно разными аллелями доминантного гена *Vrn-B1*. Результаты изучения растений BC₅₋₇ F₂ показали, что замещенные линии Sava/C29 5B и Sava/Диамант 5B различаются по времени колошения на 7–12 дней. При этом более скороспелой является линия с донорской хромосомой 5B от сорта С29. Изучение времени колошения изогенных линий Безостая 1 i: *Vrn-B1a* (56 дней) и Безостая 1 i: *Vrn-B1b* (75 дней) выявило достоверное различие между линиями в сроках колошения. Очевидно, что использование разных аллелей доминантных генов *Vrn* увеличивает возможность регулирования времени колошения, что весьма важно как для селекции новых форм, так и для понимания механизмов, обеспечивающих широкую адаптацию пшеницы.

Влияние хромосомы 5R ржи на тип развития, время колошения и продуктивность пшеницы. В линиях с чужеродным 5R(5A) замещением хромосом изучено влияние хромосомы 5R на тип развития и время колошения растений. Донором хромосомы 5R послужила яровая рожь сорта Онохойская, которая является скороспелой и в условиях г. Новосибирска выколашивается за 36 дней. С помощью RFLP-маркеров в хромосоме 5R ржи Онохойская был картирован ген *Vrn-R1* (Malyshev *et al.*, 2001). При переносе хромосомы 5R ржи Онохойская в яровые сорта мягкой пшеницы, различающиеся по скороспелости, предполагалось получить более скороспелые формы. Однако, как оказалось, замещение хромосомы 5A пшеницы с доминантным геном *Vrn-A1* на хромосому 5R ржи Онохойская с доминантным геном *Vrn-R1* вызвало значительное отставание по времени колошения у 10 пшенично-ржаных замещенных линий. Кроме того, две чужеродные линии 5R(5A) по сортам Rang и Мироновская крупнозерная проявили себя как озимые формы. Следовательно, в замещенных линиях

не наблюдалось экспрессии гена *Vrn-R1* ярового развития ржи в присутствии хромосомы 5R (Efremova *et al.*, 2006b). Можно предположить, что в популяции ржи, используемой в качестве донорской, этот ген находился в гетерозиготе (*Vrn-R1/vrn-R1*), и в скрещивание с пшеницей было взято растение, у которого хромосома 5R имела рецессивный аллель этого гена. Таким образом, произошло замещение доминантного гена *Vrn-A1* пшеницы на рецессивный аллель *vrn-R1* яровой ржи. Это вызвало переход на озимый тип развития пшенично-ржаных замещенных линий по сортам Rang и Мироновская крупнозерная. Установлено, что пшенично-ржаные 5R(5A) замещенные линии по сортам Rang и Мироновская крупнозерная в условиях г. Новосибирска успешно перезимовывают, но в меньшей степени, чем известные озимые сорта Ульяновка и Мироновская 808.

Изучено влияние хромосомы 5R ржи, находящейся в геноме мягкой пшеницы, на зерновую продуктивность главного колоса (длина колоса, число зерен и масса зерна с колоса) в полевых опытах 2005 и 2006 гг. Для структурного анализа брали по 25 колосьев замещенных линий и сортов-реципиентов. Полученные результаты показали, что на выраженность изученных признаков оказывают влияние генотип сорта-реципиента и условия вегетации. Наиболее благоприятным для роста и развития растений был 2005 г. У всех изученных замещенных линий колос был достоверно длиннее, чем у сортов-реципиентов (на 11–43 мм в 2006 г. и на 7–35 мм в 2005 г.) (рис. 2). Вероятно, это связано с отсутствием хромосомы 5A пшеницы, в которой локализован ген *Q*, ингибитор спельтоидности, который оказывает плейотропный эффект на ломкость колоса и на удлинение колосового стержня. В результате растения пшенично-ржаных замещенных линий имеют более длинный колос спельтоидной формы, что указывает на отсутствие гена *Q* у ржи.

В табл. 2 представлены результаты изучения продуктивности колоса, которые показали, что озимые пшенично-ржаные замещенные линии по сортам Rang и Мироновская крупнозерная достоверно превышали показатели сортов-реципиентов по числу зерен и массе зерна колоса. В благоприятных условиях 2005 г. у 5 пшенично-ржаных 5R(5A) линий по сортам Диамант,

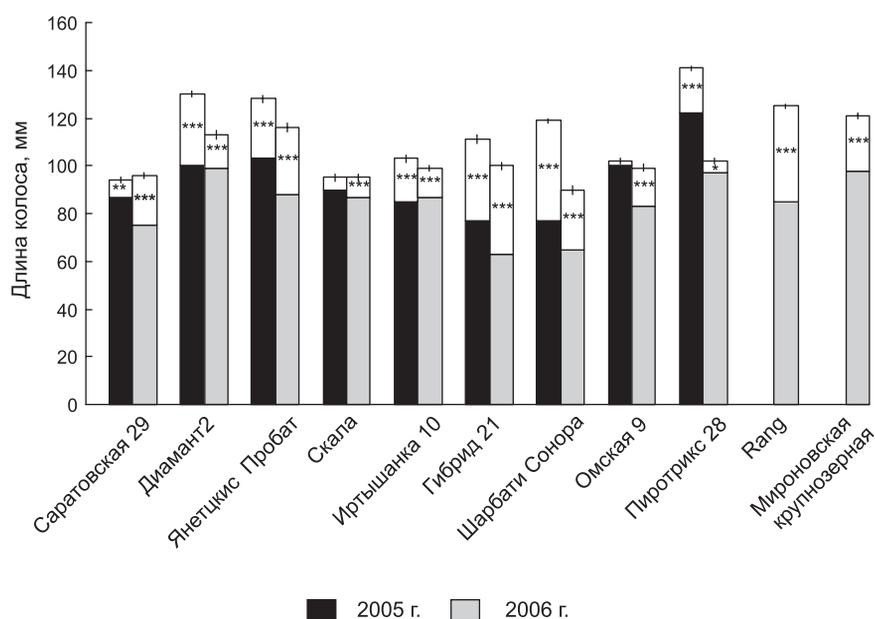


Рис. 2. Сравнение пшенично-ржаных 5R(5A) замещенных линий и сортов-реципиентов по длине колоса (г. Новосибирск, поле, 2005 и 2006 гг.).

Белый цвет – пшенично-ржаные замещенные линии 5R(5A), черный и серый цвета – сорта-реципиенты.

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

Янетцкис Пробат, Шарбати Сонора и Гибрид 21 по числу зерен наблюдали достоверное увеличение в сравнении с сортом-реципиентом, а достоверное уменьшение значений по признаку «число зерен» происходило у линии С29 5R(5A). У остальных линий различия с реципиентом не отмечены. Из-за неблагоприятных условий 2006 г. наблюдалось уменьшение числа зерен у большинства линий, поскольку верхняя часть колоса оказалась недоразвитой. Особенно это коснулось линий Скала 5R(5A) и Иртышанка 10 5R(5A), у которых установлено достоверное уменьшение числа зерен по сравнению с сортами-реципиентами.

Масса зерна главного колоса в менее благоприятных условиях 2006 г. по всем сортам и линиям была меньше, чем в 2005 г. По изученному признаку в 2005 г. произошло достоверное увеличение средних значений у линий Янетцкис Пробат 5R(5A) и Гибрид 21 5R(5A) (табл. 2). В то же время замещение хромосом 5R(5A) отрицательно повлияло на проявление этого признака у линий по сортам С29, Дм2, Скала, Иртышанка 10, Пиротрикс 28. В 2006 г. достоверное снижение массы зерна наблюдалось у трех линий по сортам Скала, Иртышанка 10, Омская 9.

Таким образом, из всех изученных пшенично-ржаных замещенных линий наиболее продуктивными по числу и массе зерна колоса оказались линии Янетцкис Пробат 5R(5A) и Гибрид 21 5R(5A), а также озимые линии Rang 5R(5A) и Мироновская крупнозерная 5R(5A). Стабильные позиции относительно реципиентов по числу зерен в колосе показали линии по сортам Омская 9 и Пиротрикс 28.

Влияние межсортового замещения хромосом 5A и 5D на качество зерна. Исследовали генетический контроль содержания белка в зерне и твердозерность в линиях с межсортовым замещением хромосом 5A и 5D. В качестве реципиента использовали сорт твердозерной пшеницы С29 с высокими показателями хлебопекарного качества, но относительно низким содержанием белка в зерне. Донорами послужили 10 сортов, в том числе мягкозерные (Ульяновка (Ул) и С5) и высокобелковые сорта (Атлас 66 и Дм2). Анализ замещенных линий указывает на значительное влияние хромосом 5-й гомеологической группы в контроле обоих признаков. В результате замещения хромосомы 5D сорта С29 на гомологичные хромосомы 10 доноров обнаружено достоверное увеличение содержания белка в зерне на 1,5 %

Таблица 2

Характеристика пшенично-ржаных 5R(5A) замещенных линий по показателям продуктивности главного колоса (г. Новосибирск, 2005, 2006 гг.).

Линия/ сорт	Показатели продуктивности			
	Число зерен с колоса, шт.		Масса зерна с колоса, г.	
	2005 г.	2006 г.	2005 г.	2006 г.
Саратовская 29	40,95	34,62	1,33	0,88
Саратовская 29 5R(5A)	34,83**	30,06*	1,01***	0,90
Диамант 2	35,40	22,52	1,12	0,77
Диамант 2 5R(5A)	40,56*	30,50***	0,73**	0,79
Янетцкис Пробат	39,31	31,69	1,09	0,70
Янетцкис Пробат 5R(5A)	55,42***	26,47	1,56**	0,66
Скала	36,85	37,65	1,28	0,97
Скала 5R(5A)	29,63	24,44***	0,68**	0,79**
Иртышанка 10	34,40	40,02	1,19	1,10
Иртышанка 10 5R(5A)	37,95	33,14***	0,92***	0,72**
Гибрид 21	32,75	22,60	0,98	0,49
Гибрид 21 5R(5A)	40,56**	16,38	1,11***	0,36
Шарбати Сонора	34,00	23,31	0,95	0,58
Шарбати Сонора 5R(5A)	40,07*	26,43	1,09	0,60
Омская 9	40,44	30,26	1,35	1,14
Омская 9 5R(5A)	41,40	31,26	1,19	0,85***
Пиротрикс 28	58,35	31,13	1,72	0,70
Пиротрикс 28 5R(5A)	60,25	32,84	1,18*	0,46
Rang	–	31,31	–	0,76
Rang 5R(5A)	–	40,70***	–	1,37***
Мироновская крупнозерная	–	24,12	–	1,0
Мироновская крупнозерная 5R(5A)	–	36,51***	–	1,65**

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

в среднем у 6 линий по сортам Дм2, Мироновская 808 (М808), Атлас 66 (А66), Янетцкис Пробат (ЯП), Скороспелка 35 (Ск35) и СС в сравнении с реципиентом (рис. 3). Необходимо отметить, что изученные замещенные линии не достигли уровня высокобелковых яровых сортов-доноров (рис. 3). Относительно реципиента С29 и доноров содержание белка в зерне в двух замещенных линиях по сортам Новосибирская 67 (Н67) и Грекум 114 (Гр114) было достоверно ниже в среднем на 1, 6 % (рис. 3). Межсортовое замещение хромосомы 5A от этих же доноров не выявило различий с реципиентом С29.

Также в 10 замещенных линиях по хромосоме 5D и трех линиях по хромосоме 5A провели

оценку твердозерности по диаметру частиц муки (в микронах). Чем выше этот показатель, тем выше качество муки. По структуре эндосперма зерно пшеницы классифицируется на твердозерные и мягкозерные. Мягкозерность является доминантным признаком. Известно, что ген, определяющий твердость *ha* (hard), локализован в коротком плече хромосомы 5D (Law *et al.*, 1978). Результаты исследования показали, что в условиях гидропонной теплицы средний диаметр частиц муки сорта-реципиента С29 составил 22,5 мк. Из 10 изученных замещенных линий по хромосоме 5D у 4 (по сортам Н67, А66, Гр114, Дм2) отмечено достоверное превышение диаметра частиц муки по

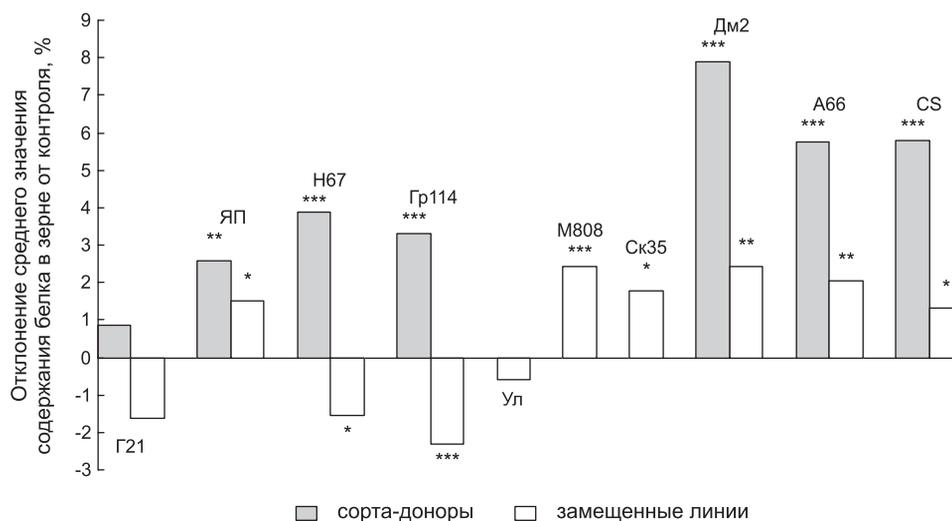


Рис. 3. Отклонения по содержанию белка в зерне линий с межсортовым замещением хромосомы 5D и сортов-доноров от сорта Саратовская 29 (гидропонная теплица).

* $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,01$; *** $p \geq 0,001$.

сравнению с реципиентом в среднем на 2–6 мк. Две замещенные линии по сортам Г21 и ЯП оказались на уровне реципиента С29 (23 мк). При этом только две замещенные линии С29/ Н67 5D и С29/ А66 5D достигли уровня сортов-доноров (26мк). Мука с самым мелким диаметром частиц была у замещенных линий С29/Ул 5D и С29/СС 5D (соответственно 10,93 и 11,13 мк) и их сортов-доноров (10 и 12 мк). В то же время у линии С29 с межсортовым замещением хромосомы 5А от сорта Ул диаметр частиц муки составил 23,8 мк, что превышает показатели донора на 11,7 мк и приближается к значению реципиента С29. Также на уровне реципиента оказались еще две замещенные линии пшеницы С29 по хромосоме 5А от озимых доноров Ск35 и М808 с диаметром частиц муки соответственно 27 и 25 мк.

Таким образом, сравнительный анализ качества зерна растений позволил выделить две линии пшеницы С29 с межсортовым замещением хромосомы 5D от высокобелковых доноров А66 и Дм2 с максимальными показателями изученных признаков.

Интрогрессия генов устойчивости к патогенам в мягкую пшеницу от амфидиплоида *T. timopheevii* Zhuk. × *Ae. tauschii* Coss. В полевых экспериментах в естественных условиях и на инфекционном участке показано, что иммунные линии пшеницы С29 характери-

зуются комплексной устойчивостью к болезням. Генетический анализ потомств $BC_5F_2-BC_8F_2$ показал, что устойчивость к бурой ржавчине и мучнистой росе контролируется одним или двумя неаллельными доминантными генами (Лайкова и др., 2004б). Кроме того, не выявлено аллелизма между *Lr*-генами иммунных линий и известными эффективными генами (*Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr23*, *Lr32*). Эти данные показывают, что линии содержат неизвестные *Lr*-гены, контролирующие устойчивость растений к бурой ржавчине. Было установлено, что у иммунных линий QTL устойчивости к листовой ржавчине локализованы на хромосомах 2В и 2D (Leonova *et al.*, 2007).

Показано, что чужеродные гены, интрогрессированные из синтетической пшеницы, не оказали отрицательного влияния на продуктивность и качество зерна иммунных линий С29, а ряд линий по таким признакам, как содержание клейковины, белка и физические свойства теста, превосходят сорт-реципиент С29 (Лайкова и др., 2007). Оценка большого числа гибридных образцов, полученных от скрещивания иммунных линий сорта С29 с линиями омской селекции в селекционных питомниках СибНИИСХ (г. Омск), позволила выявить перспективные среднеранние, среднеспелые и среднепоздние линии пшеницы, устойчивые к грибным болезням и превышающие по урожайности сорта-

стандарты: Памяти Азиева, Омская 18, Омская 28, Омская 29.

Таким образом, проведенные нами многолетние генетические исследования с использованием коллекций анеуплоидных и замещенных линий мягкой пшеницы свидетельствуют о важности методов хромосомной инженерии в изучении влияния отдельных хромосом на проявление хозяйственно ценных признаков, локализации и картирования генов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (07-04-00857), программы Президиума РАН «Динамика генофондов и биоразнообразие», федеральной целевой программы РФ (Госконтракт 02.512.11.2256) и комплексного интеграционного проекта СО РАН (№ 3).

Литература

- Лайкова Л. И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Создание иммунных линий сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к грибам бурой ржавчины и мучнистой росы // Генетика. 2004а. Т. 40. № 5. С. 631–635.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Изучение устойчивости к грибным болезням потомств гибридов от скрещивания сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 с амфидиплоидом *Triticum timopheevii/Triticum tauschii* (AAGGDD) // Генетика. 2004б. Т. 40. № 9. С. 1274–1279.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т. и др. Оценка продуктивности и качества зерна у иммунных линий мягкой пшеницы сорта Саратовская 29 // С.-х. биология. 2007. № 5. С. 75–85.
- Лайкова Л.И., Гайдаленок Р.Ф., Майстренко О.И. Метод создания серии дителосомных линий мягкой пшеницы Саратовская 29 и их цитологическое изучение // Цитология и генетика. 1988. Т. 22. № 1. С. 41–45.
- Майстренко О.И. Состояние и задачи исследований по созданию новых серий анеуплоидов мягкой пшеницы // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. Новосибирск, 1973а. С. 9–23.
- Майстренко О.И. Локализация хромосом, несущих гены *Vrn1* и *Vrn3*, подавляющие озимость у пшеницы // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. Новосибирск, 1973б. С. 169–177.
- Майстренко О.И. Идентификация и локализация генов, контролирующих опушение листа молодых растений мягкой пшеницы // Генетика. 1976. Т. XII. № 5. С. 5–15.
- Майстренко О.И. Использование цитогенетических методов в исследовании онтогенеза мягкой пшеницы // Онтогенетика высших растений. Кишинев: Штиинца, 1992. С. 98–114.
- Arbuzova V.S., Maystrenko O.I., Popova O.M. Development of near-isogenic lines of the common wheat cultivar *Saratovskaya 29* // Cereal Res. Commun. 1998. V. 26. № 1. P. 39–46.
- Devos K.M., Sorrells M.E., Anderson J.A. *et al.* Chromosome aberrations in wheat nullisomic-tetrasomic and ditelosomic lines // Cereal Res. Commun. 1999. V. 27. № 3. P. 231–239.
- Dobrovolskaya O., Arbuzova V.S., Louhwasser U. *et al.* Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Euphytica. 2006. V. 150. P. 355–364.
- Efremova T.T., Maystrenko O.I., Arbuzova V.S., Laikova L.I. Genetic analysis of glume colour in common wheat cultivars from the former USSR // Euphytica. 1998. V. 102. P. 211–218.
- Efremova T.T., Leonova I.N., Arbuzova V.S., Laikova L.I. Development of inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) bearing a rye genetic marker and their verification with microsatellite markers // Cereal Res. Commun. 2006a. V. 34. № 2/3. P. 973–980.
- Efremova T.T., Maystrenko O.I., Arbuzova V.S. *et al.* Effect of alien 5R(5A) chromosome substitution on ear-emergence time and winter hardiness in wheat-rye substitution lines // Euphytica. 2006b. V. 151. P. 145–153.
- Efremova T.T., Arbuzova V.S., Laikova L.I. *et al.* Study of multiple allelism of the *VRN-1* locus in common wheat // Proc. of the 14th Intern. EWAC Conf. Istanbul, Turkey, 6–10 May, 2007. EWAC Newsletter, 2008. P. 110–112.
- Friebe B., Raupp W.J., Gill B.S. Alien genes in wheat improvement // Wheat in a global environment / Eds Z. Bedö, L. Lóng. 5–9 June 2000, Budapest, Hungary. 2001. V. 9. P. 709–720.
- Leonova I.N., Laikova L.I., Popova O.M. *et al.* Detection of quantitative trait loci for leaf rust resistance in wheat-*T. timopheevii/T. tauschii* introgression lines // Euphytica. 2007. V. 155. P. 79–86.
- Law C.N., Worland A.J. Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis // Plant Breeding Institute Annual Report. 1973. P. 25–65.
- Law C.N., Young C.F., Brown J.W.S. *et al.* The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines // Seed protein improvement by nuclear techniques. Vienna: Int. Atomic Energy Agency, 1978. P. 483–502.
- Maystrenko O.I., Laikova L.I. Chromosomal localization and linkage relationship of the *Pan1* and *Pc2* genes

- controlling anthocyanin pigmentation of the anthers and culm in common wheat // Proc. of the 9th EWAC Conf. Gatersleben-Wernigerode (Germany), 1994. EWAC Newsletter, 1995. P. 120–122.
- Maystrenko O.I., Laikova L.I., Arbuzova V.S., Melnik V.M. The chromosomal location of the *S1*, *S2* and *S3* genes of induced sphaerococcoid mutations in common wheat // Proc. of the 10th EWAC meeting. Viterbo (Italy), 16–19 June. 1997. EWAC Newsletter, 1998. P. 127–130.
- Malyshev S., Korzun V., Efremova T.T., Börner A. Inheritance and molecular mapping of a gene determining vernalization response in the Siberian spring rye variety 'Onokhoiskaya' // Cereal Res. Commun. 2001. V. 29. P. 259–265.
- McIntosh R.A., Devos K.M., Dubcovsky J. *et al.* 2006. Catalogue of gene symbols for wheat: 2006 Suppl. <http://wheat.pw.usda.gov/>
- Pestsova E., Salina E., Börner A. *et al.* Microsatellites confirm the authenticity of inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 101. P. 95–99.
- Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. 1998. V. 100. P. 323–340.
- Salina E., Börner A., Leonova I. *et al.* Microsatellite mapping of the induced sphaerococcoid mutation genes in *Triticum aestivum* L. // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 100. P. 686–689.
- Sears E.R. The aneuploids of common wheat // Missouri. Agric. Exptl. Sta. Res. Bull. 1954. № 572. P. 1–58.
- Shchapova A.I., Kravtsova L.A. The production of wheat-rye substitution lines by using the Giemsa staining technique // Cereal Res. Commun. 1982. V. 10. P. 33–39.
- Unrau J., Person C., Kuspira J. Chromosome substitution in hexaploid wheat // Can. J. Bot. 1956. 34. P. 629–640.
- Worland A.J. Catalogue of monosomic series // Proc. of the 7th Intern. Wheat Genet Symp. / Eds R. Koebner, T.E. Miller. Cambridge, UK. 1988. V. 2. P. 1399–1403.

PRESERVING GENETIC DIVERSITY OF ANEUPLOID AND SUBSTITUTION LINES AND THEIR USE IN RESEARCH OF COMMON WHEAT

T.T. Efremova, L.I. Laikova, V.S. Arbuzova, O.M. Popova

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: efremova@bionet.nsc.ru

Summary

A genetic collection of monosomic and ditelosomic lines of common wheat varieties Saratovskaya 29 and Diamant were obtained in ICG SB RAS. Also we are supporting a series of lines on the aneuploids of cv. Chinese Spring, developed by E. Sears. On the basis of the monosomic lines, sets of inter-varietal and alien substitutions of individual chromosomes or their fragments were obtained with the use of different varieties of *Triticum aestivum* L. and representatives of other taxonomic groups (*Secale cereale* L., *Aegilops tauschii* Coss., *Triticum timopheevii* Zhuk.). Sets of aneuploids and substitution lines were used for studying genetic effects of individual chromosomes on manifestation of agronomically-useful traits, localization and mapping genes. Special attention has been paid to development and effectiveness evaluation of methods of task-oriented and accelerated transfer of chromosomes or their fragments which contained desirable genes from varieties and related species to wheat genome.

ОТДАЛЕННЫЕ СКРЕЩИВАНИЯ КАК ИСТОЧНИК УВЕЛИЧЕНИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЕРНОВЫХ

Т.К. Тараканова¹, В.А. Соколов¹, Э.А. Абдырахманова¹, С.А. Блэки²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: sokolov@bionet.nsc.ru;

² Отделение биологии, Государственный университет Болла, Манси, IN 47306-0440, США

Дикие родственники сельскохозяйственных культур являются важным источником генетического разнообразия, и гибридизация с ними является основным источником расширения адаптивных свойств культурных форм. В этой связи дальний родственник кукурузы – гамаграсс (*Tripsacum dactyloides*) – обладает рядом ценных признаков и свойств (прежде всего апомиктическим способом размножения, засухоустойчивостью, устойчивостью к болезням и вредителям, повышенным содержанием белка и незаменимых аминокислот и др.), которые могут быть переданы кукурузе при гибридизации. В лаборатории цитологии и апомиксиса растений ИЦиГ СО РАН созданы уникальные гибриды гамаграсса с кукурузой (*Zea mays* L.), обладающие ценными признаками, полученными от дикого родителя.

Ключевые слова: кукуруза, гамаграсс, кукурузно-трипсакумный гибрид, отдаленная гибридизация, апомиксис, устойчивость, биотические и абиотические факторы.

Отдаленная гибридизация остается важнейшим методом получения селекционного материала. Гибридизация культурных растений с дикими сородичами позволяет расширить генофонд культурных растений, который был значительно сужен в ходе длительного искусственного отбора перспективных форм, адаптированных к достаточно узкому набору факторов определенной зоны.

Введение в сельскохозяйственный оборот не использовавшихся ранее земель с высоким содержанием вредных для растений факторов (токсические ионы, затопляемость и др.), изменение климата – все это потребует использования новых генетических резервов в селекции на устойчивые урожаи (Hoisington *et al.*, 1999). Практически неисчерпаемым источником полезных признаков для селекционного совершенствования кукурузы (*Zea mays* L.) является ее дальний родственник – трипсакум – *T. dactyloides* (синоним – гамаграсс).

Цитогенетические исследования гибридов кукурузы с диким сородичем показали частичное спаривание хромосом, обусловленное гомологией между их сегментами у гамаграсса и кукурузы (Galinat 1974). Используя создан-

ные Мангельсдорфом тестерные линии с рецессивными локусами на каждой хромосоме, Галинат (Galinat, 1974) представил первую межгеномную карту кукурузы и гамаграсса, демонстрирующую частичную гомеологию хромосом двух геномов. Факт спаривания и рекомбинаций хромосом кукурузы и гамаграсса позволяет предполагать ограниченную передачу его генов кукурузе.

Tripsacum – это род Нового Света, который широко представлен в Северной, Центральной и Южной Америках. Он наряду с *Zea* входит в подтрибу Tripsacinae, трибу Andropogoneae, подсемейство Panicoideae, семейство Poaceae (стар. Gramineae) (Grass Phylogeny ..., 2001).

Род включает 15 видов и по комплексу признаков соцветия разделен на две секции – *Fasciculata* и *Tripsacum*. Мексика и Гватемала являются центрами его разнообразия, где обнаружено 12 видов. Достаточно подробно это было изложено ранее (Blakey *et al.*, 2007).

Виды *Tripsacum* имеют значительную вариабельность по уровню пloidности. Немногие из них являются только диплоидами ($2n = 2x = 36$), другие имеют диапазон от диплоида до тетраплоида ($2n = 2x = 36$, $2n = 3x = 54$, $2n = 4x = 72$), а в

некоторых случаях до пентаплоида ($2n = 5x = 80$) и гексаплоида ($2n = 6x = 108$), но некоторые – строго тетраплоиды (Berthaud *et al.*, 1997). Все диплоиды воспроизводятся половым путем, тогда как полиплоиды являются факультативными апомиктами (псевдогамная диплоспория) (Grimanelli *et al.*, 2003). Между диплоидами и полиплоидами возможна гибридизация.

Единственным известным естественным гибридом между *Tripsacum* и *Zea* является широко распространенный вид *T. andersonii* J.R. Gray ($2n = 64$), который был подробно изучен с использованием молекулярных методов (Berthaud *et al.*, 1997). В качестве отцовского родителя был идентифицирован *Zea luxurians* (теосинте), привнесший гаплоидный набор ($n = 10$), в то время как триплоид *T. latifolium* ($3x = 54$) – наиболее вероятный материнский родитель, являющийся донатором триплоидного набора. Эта форма культивируется как кормовая культура.

Из всех видов рода *Tripsacum* *Tripsacum dactyloides* L. ($2n = 36$, $3n = 54$, $4n = 72$) имеет самую большую изменчивость морфологических признаков и распространен по всему известному географическому ареалу рода (Springer, Dewald, 2004). Он широко распространен в Северной Америке (США, Мексика), Центральной Америке (Белиз, Коста-Рика, Гватемала, Гондурас, Мексика, Панама), на Карибских островах (Багамы, Куба, Гаити), на севере Южной Америки (Боливия, Бразилия, Колумбия, Эквадор, французская Гвиана, Гайана, Парагвай, Суринам, Венесуэла).

Английское название «гамаграсс» включает разные виды рода, например, гамаграсс восточный (*T. dactyloides*, секция *Tripsacum*), гамаграсс гватемальский (*T. latifolium*, секция *Tripsacum*), гамаграсс мексиканский (*T. lanceolatum*, секция *Fasciculata*) (Mangelsdorf, Reeves, 1939; Grass Phylogeny ..., 2001). В пределах *T. dactyloides* выделены разновидности, цитологические и морфологические особенности которых генетически не вполне ясны (Doebley, 1983): *Tripsacum dactyloides* (L.) var. *L. dactyloides*; *Tripsacum dactyloides* (L.) var. *L. hispidum* (Hitchc.) de Wet and J.R. Harlan; *Tripsacum dactyloides* (L.) var. *L. meridionale* de Wet and Timothy; *Tripsacum dactyloides* (L.) var. *L. mexicanum* de Wet and J.R. Harlan.

T. dactyloides приспособлен к произрастанию в широком диапазоне эколого-географических условий: прериям, прибрежным переувлажненным и частично засоленным равнинам, полувлажным областям, песчаным почвам, скалистым обнажениям, берегам рек и открытым участкам лесной зоны. Наиболее распространен на влажных лугах, на берегах рек и вокруг болот (Harlan, de Wet, 1977).

В прериях Среднего Запада США гамаграсс восточный (*T. dactyloides* var. *dactyloides* L.) часто остается зеленым в течение летней засухи, в то время как другие растения гибнут от жары (Clark *et al.*, 1998). Глинистые слои (с содержанием глины 30–50 %), лежащие под рыхлым верхним слоем почвы, препятствуют росту корней, ограничивают доступ влаги и питательных веществ в течение периодов засухи. Исследования, проведенные в Миссури, показали, что корни гамаграсса восточного эффективно проникали в глубокие глинистые слои почвы (до 180 см), в которых влажность была неограниченной. Микроскопическое изучение корней выявило у них наличие аэренхимы – ткани с воздухоносными каналами, которые позволяют транспортировать воздух от наземной части растения. После отмирания корни медленно разлагаются и их воздушные каналы используются растущими молодыми корнями. Наличие аэренхимы у гамаграсса восточного также позволяет ему выживать на затопляемых почвах, за что его иногда называют «аирная трава» (Polk, Adcock, 1964).

Более глубокие слои почвы (кроме 180 см) имели рН < 5,0 и могли содержать ядовитые концентрации алюминия. В ряде экспериментов, проводимых в теплице, гамаграсс восточный также показал устойчивость к низким рН почвы и высоким концентрациям алюминия (Foy, 1997).

Вид расселен в очень широком эколого-географическом диапазоне: приблизительно от 42 °с.ш. до 24 °ю.ш. и почти от 0 до 2100 м над уровнем моря. В этих пределах наблюдается большой перепад среднегодовых температур: от 12 °С до 24 °С. Надземная масса растения, пораженная морозом, возобновляет рост в начале весны. Растения выдерживают температуры, близкие к –30 °С, но им необходимы по крайней мере 140 безморозных вегетационных дней для непрерывного возобновления.

Гамаграсс восточный был важным пастбищным кормом для диких и домашних животных (особенно бизонов) центральных равнинных штатов США в течение XIX в. (Polk, Adcock, 1964). К настоящему времени он почти исчез из прерии из-за перевыпаса и неправильного использования в производстве сена (например, частом срезании ниже 15 см), а также в результате распашки земли под сельскохозяйственные культуры. Однако сейчас гамаграсс восточный возвращается как разновидность фуража. Введен в культуру в США с 1988 г. В настоящее время создано более 10 сортов. В хороших условиях может давать 20–30 т/га сена. Легко переваривается животными. Содержание белка в фураже – 17 %, в зерне – около 30 % (Faix *et al.*, 1980; Burns *et al.*, 1992). Эта культура признана «королевой фуража», так как обладает многолетним типом развития, ценными кормовыми качествами и высокой продуктивностью. Крупный рогатый скот, пасущийся на гамаграссе восточном (норма выпаса 5 животных/га), прибавляет в весе более 1 кг/голову в день в ранний вегетационный период и 0,5–0,7 кг/голову в день в конце сезона.

Гамаграсс не поражается большинством заболеваний, характерных для кукурузы, и толерантен к ее вредителям. Кроме того, он устойчив к африканскому паразитарному сорняку (*Striga hermonthica*).

Селекционеры признают, что *Tripsacum* имеет значительный генетический потенциал для улучшения кукурузы (de Wet, 1979; Cohen, Galinat, 1984; Kindiger, Beckett, 1990). Признаки, которые могут быть переданы от

гамаграсса, включают: 1) повышенную жаро- и засухоустойчивость (Reeves, Bockholt 1964); 2) элементы апомиксиса, стабилизирующие гетерозис (Петров, 1957); 3) устойчивость к патогенам и насекомым.

Потомства гибридов кукурузы с гамаграссом являются мужскостерильными и частично женскофертильным, когда опыляются пылью кукурузы. Низкая завязываемость кукурузно-трипсакумных гибридов свидетельствует о значительном биологическом препятствии для переноса генов между этими видами. Успешная интрогрессия генетического материала *Tripsacum* в кукурузу требует многолетних селекционных программ, которые включают несколько беккроссных поколений, чтобы стабилизировать желательные гены трипсакума в генотипе кукурузы.

Одно из самых интересных исследований по интрогрессии признаков *Tripsacum* в кукурузу выполнено Дювик с соавт. (Burkhart *et al.*, 1994; Duvick *et al.*, 2006). Они создали линии кукурузы со значительно более высоким уровнем полиненасыщенных жирных кислот и со средним содержанием наиболее ценной олеиновой кислоты 42,8 %.

Кукуруза поражается более чем 400 вредителями и болезнями. Гамаграсс восточный является потенциальным источником устойчивости к ряду из них (табл.). Жуки *Diabrotica* spp. являются серьезными вредителями сельскохозяйственных растений. Личинки жуков *Diabrotica* питаются корневой системой кукурузы в течение нескольких недель. Это наиболее разрушительный этап,

Таблица

Список вредителей и болезней/болезнетворных микроорганизмов, к которым устойчив интрогрессивный материал кукурузно-гамаграссных гибридов

Вредитель или возбудитель болезни	Общее название	Источник
<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (Drechs.) Drechs.	ложная листовая гниль	Bergquist, 1979
<i>Colletotrichum graminicola</i> (Ces.) G.W. Wils.	антракноз	Bergquist, 1979
<i>Diabrotica virgifera virgifera</i> LeConte	западный или колорадский кукурузный жук	Branson, 1971; Moellenbeck <i>et al.</i> , 1995
<i>Erwinia stewartii</i> (Smith) Dye	Вилт Стюарта	Bergquist, 1979
<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) Leonard and Suggs [syn. <i>Helminthosporium turcicum</i>]	северная листовая гниль	Bergquist, 1979; Hooker, 1981
<i>Puccinia sorghi</i> Schwein.	обыкновенная ржавчина кукурузы	Bergquist, 1979, 1981

приводящий к полеганию растений. Взрослые жуки питаются наземными частями растений, включая пыльцу, рыльца и листья. Сокращение урожайности кукурузы из-за насекомых-вредителей корневой системы колеблется от 13 до 16 %, ежегодный ущерб (потери зерна, стоимость инсектицидов и обработка ими) в США оценивается в 1 млрд долларов (Metcalfе, 1986). В настоящее время в США гамаграсс исследуется как источник устойчивости к корневому вредителю (Moellenbeck *et al.*, 1995) и паразитарному сорняку *Striga* в Африке (Gurney *et al.*, 2003).

Гамаграсс восточный является центральной темой исследований в научно-исследовательской станции растений южных равнин США (Southern Plains Range Research Station SPRRS). Он активно изучается на предмет повышения его продуктивности и фуражных качеств, а также как источник многолетности и генетического совершенствования кукурузы.

Первый в мире проект по передаче апомиктичного способа размножения кукурузе был начат в СССР в 1958 г. Его автором был профессор Д.Ф. Петров, создавший для решения этой проблемы лабораторию цитологии и апомиксиса растений в Институте цитологии и генетики СО АН СССР (Петров, 1957). Идея же закрепления гетерозиса через апомиктическое размножение принадлежит М.С. Навашину и Г.Д. Карпеченко, с которыми Д.Ф. Петров работал перед второй мировой войной в знаменитом ВИР. Лаборатория Д.Ф. Петрова занималась созданием апомиктичной кукурузы, для чего использовали несколько подходов. Один из них оказался весьма продуктивным и позже нашел применение в США, Франции и Мексике. В этом исследовании передачу кукурузе (*Zea mays* L. – Zm) апомиктического способа репродукции осуществляли путем гибридизации с 72-хромосомным гамаграссом восточным (*T. dactyloides* L. – Td), полученным из Ташкентского ботанического сада, куда он был передан из материалов экспедиции Н.И. Вавилова. Д.Ф. Петров предполагал, что контроль бесполоевого размножения у гамаграсса регулируется двумя генами, один из которых контролирует апомейоз (нередукцию), другой – партеногенез. Поэтому для получения апомиктичной кукурузы ей необходимо передать от дикого сородича максимум две хромосомы, несущие эти гены.

При этом предполагали, что присутствие небольшого количества генетического материала от дикого родича не окажет влияния на фенотип и хозяйственно полезные признаки кукурузы. На основе таких допущений и была начата программа скрещиваний кукурузы с гамаграссом. В качестве родительских форм были выбраны их тетраплоидные линии ($Zm - 2n = 4x = 40$; $Td - 2n = 4x = 72$). В начале исследований было неизвестно, будет ли проявляться апомиксис у гибридов первого поколения? В ходе работы выяснилось, что признак бесполоевого размножения доминантен и наблюдается у получаемых гибридов F_1 ($20Zm + 36Td$). Так как созданные апомиктичные гибриды имели 36 хромосом гамаграсса и были далеки по хозяйственным признакам от кукурузы, то встала проблема редукции части генетического материала дикого родителя, не имеющей отношения к контролю признака апомиксиса. Это возможно, поскольку апомикты иногда дают половое потомство (B_{II} -гибриды), чему предшествуют: нормальное протекание мейоза; оплодотворение яйцеклетки. В этом случае у 56-хромосомных гибридов формируется зародышевый мешок, ядра которого имеют по 28 хромосом. При опылении диплоидной кукурузой они дадут потомков с 38 хромосомами ($20Zm + 18Td$). В случае закладки апомейотических зародышевых мешков гибриды могут давать половое потомство, но уже называемое B_{III} -гибридами. В этом случае нередуцированная яйцеклетка теряет способность к партеногенезу, и в результате ее оплодотворения число хромосом в зиготе увеличивается на число хромосом спермия. Используя такие подходы, мы создали серию апомиктичных гибридных линий, имеющих разное число (от 2 до 6) полных геномов кукурузы ($x = 10$) и 18 хромосом гамаграсса (Соколов и др., 1998а; Blakey *et al.*, 2007). Но они в силу большого количества генетического материала от дикого родителя уступали кукурузе в урожайности, что исключало перспективу их хозяйственного использования. Однако исходя из знаний генетики кукурузы можно было надеяться на быстрое селекционное совершенствование гибридов (Kindiger, Sokolov, 1997).

Вскоре нам удалось выявить несколько 39-хромосомных апомиктичных гибридов ($30Zm + 9Td$), которые получили так же, как и ра-

нее выделенные 38-хромосомные (20Zm + 18Td), благодаря редкому половому размножению – *В_{II}*-гибридизации (Соколов и др., 1998б). Примечательно, что все независимо полученные 39-хромосомные линии имели идентичные наборы из 9 хромосом гамаграсса. В последующих исследованиях было установлено, что эти 9 хромосом являются минимально необходимыми для поддержания апомиксиса, и потеря любой из них приводит к половому размножению. Отсюда следовало: признак апомиксиса имеет сложный генетический контроль, и для его стабильного проявления необходимы 9 определенных хромосом дикого родителя; в дальнейшем работу по созданию апомиктической кукурузы надо строить с учетом этого обстоятельства. Реальность второго вывода этих исследований, казалось, осложняла достижение цели – получение апомиктической кукурузы, так как присутствие 9 хромосом гамаграсса должно было существенно влиять на хозяйственно ценные признаки гибрида. Действительно, некоторые из них, прежде всего вес одной зерновки (~ 0,06 г), были гораздо ближе к таковому у гамаграсса (~ 0,03 г), чем у кукурузы (~ 0,22 г). Кроме того, избыточная кустистость также была нежелательна для коммерческого использования (Sokolov, Khaturova, 2000). Для успешной работы по совершенствованию апомиктических гибридов было необходимо более глубокое понимание характера наследования признака апомиксиса. Но работа по генетическому контролю этого признака осложняется отсутствием сегрегации при созревании яйцеклеток. Эту проблему можно обойти, так как у апомиктического гамаграсса, как и у растений с половым типом размножения, при формировании мужских половых продуктов мейоз осуществляется нормально, а вместе с ним и расщепление признаков. Скрестив несколько десятков растений диплоидной кукурузы с гамаграссом, мы получили 46-хромосомные гибриды (10Zm + 36Td), которые для анализа наследования апомиксиса были опылены пылью культурного родителя. Результаты этого исследования выявили у гамаграсса независимую передачу двух компонентов апомиксиса (апомейоз, партеногенез) (Соколов, 2000). Кроме того, на основании этого и других экспериментов был сделан вывод о моногенном контроле апомейоза и полигенном контроле

партеногенеза. Таким образом, проведенные исследования продвинули представления о генетической природе апомиксиса у гамаграсса и его проявления у гибридов с кукурузой. Ранее многие исследователи считали контроль апомиксиса моногенным. Следовательно, программа работы по совершенствованию линий с добавлением 9 хромосом гамаграсса, сформулированная нами, является верной, а усилия по генно-инженерному пути создания апомиктов, начатые в некоторых лабораториях мира, не имеют четких перспектив. Прежде всего, неясно, имеются ли «специальные» гены апомиксиса, или бесполое размножение определяется изменениями в проявлении генов, контролирующих половой процесс у растений. Кроме того, мы не знаем, сколько этих генов и как организована их работа, а значит непонятно, как их переносить и т. д. К тому же мировая общественность негативно относится к геномодифицированным продуктам. Американские генетики к середине 1990-х гг. прошлого столетия показали, что культурная кукуруза и ее ближайший родственник – теосинте – отличаются единичными генами, контролирующими развитие (по разным оценкам – от 3 до 5) (Doebley *et al.*, 1995). Поэтому, индуцируя и отбирая мутантов, можно будет достаточно просто усилить ценные признаки у апомиктических гибридов. Используя γ -лучи в качестве мутагена, мы получили «кукурузоподобные» 58-хромосомные гибриды (40Zm + 18Td), весьма близкие по габитусу к культурному родителю. Эти растения имели один стебель, как и кукуруза, а неселектированные 58-хромосомные формы – 7–11 стеблей, кроме того, у них было 12–14 рядов в початке, а у исходных только 8–10. Понимая, что апомиктические кукурузно-трипсакумные гибриды будут конкурировать за рынок с гибридной кукурузой, мы провели сравнительный анализ признаков, по которым наблюдается их превосходство. К таковым необходимо отнести: 1) урожай зеленой массы, ее высокую фуражную ценность и содержание протеина; 2) содержание переваримых компонентов; 3) содержание полиненасыщенных жирных кислот в семенах; 4) толерантность к неблагоприятным почвенным и климатическим условиям. Эти несомненные преимущества позволили бы уже в настоящее время успешно бороться за коммер-

ческое использование кукурузно-трипсакумных гибридов в качестве фуражной культуры, но их полная мужская стерильность пока остается преградой на этом пути. С целью получения у них потомства (для формирования эндосперма необходимо опыление) приходится высевать в качестве опылителя кукурузу, как правило, в 4–5 сроков, с недельным интервалом между ними, что несложно делать в полевом опыте, но совершенно нетехнологично в производстве. Поэтому выяснение механизмов мужской стерильности у апомиктических кукурузно-трипсакумных гибридов является приоритетной задачей на ближайшее время. Подобная проблема у этих гибридов была и с женской фертильностью. Первоначально выделенные 39- и 49-хромосомные линии имели фертильность не более 5 % на початок. Нам удалось выяснить, что в значительной степени такая низкая завязываемость связана с особенностями роста пыльцевых трубок при опылении. Подбором опылителей удалось добиться 50 %-й фертильности, что с учетом многопочатковости гибридов делает их вполне конкурентоспособными с кукурузой по продуктивности. Вместе с тем в ближайшее время мы надеемся выяснить и устранить другие причины, снижающие женскую фертильность апомиктов. Как показал предварительный анализ, один из главных факторов, обуславливающих ее, – импринтинг (Sokolov, Khatypova, 2000), – это специфическое химическое и пространственное маркирование ДНК в хромосомах при формировании генеративных клеток, определяющее активность действия некоторых генов в развитии. При этом женские и мужские гаметы импринтируются по-разному и, соответственно, их гены вносят разный вклад в проявление признаков, в частности, число делений оплодотворенной центральной клетки зародышевого мешка, формирующей эндосперм (что определяет размер и вес зерновок). Импринтированные гены, пришедшие от матери, подавляют, а от отца, напротив, стимулируют рост эндосперма в зерновке. Для нормального развития эндосперма у большинства покрытосеменных растений, размножающихся половым путем, необходимо соотношение женских и мужских хромосом 2 : 1 соответственно, при ином соотношении эндосперм у злаков не развивается, что приво-

дит к абортивности зародыша. Важно отметить, что это правило, являющееся абсолютным для кукурузы, не работает строго у апомиктического гамаграсса, т. е. у последнего соотношение может отклоняться от 2 : 1, однако для развития эндосперма оплодотворение центральной клетки зародышевого мешка остается необходимым. У кукурузы импринтируемые гены, действие которых в сильной степени сказывается на развитии эндосперма и его размере (следовательно, и на урожае), локализованы в основном в хромосомах 4, 5 и 10. Особенно значительным эффектом на величину эндосперма обладает хромосома 5. Поэтому созданная нами линия с дополнительной хромосомой 5 кукурузы дает вес зерновок в два раза больший, чем 38-хромосомные (Sokolov, Khatypova, 2000).

Итак, в результате проведенных исследований показан сложный характер генетического контроля апомиктического развития, вскрыты механизмы женской стерильности бесполо-семенных гибридов и показаны пути ее преодоления, изучены генетические механизмы импринтинга и пути повышения продуктивности апомиктических гибридов с использованием этого эффекта. Получен патент США: «Апомиктическая кукуруза» № 5, 710, 367, зарегистрированный и в ряде других стран. Но самое главное – создана огромная коллекция апомиктических линий, которая может быть использована в качестве исходного материала как в исследованиях различных аспектов апомиктического развития, так и в работе по созданию коммерческих сортов и передаче кукурузе устойчивости к широкому спектру биотических и абиотических факторов.

Литература

- Петров Д.Ф. Значение апомиксиса для закрепления гетерозиса // Докл. АН СССР. 1957. Т. 112. С. 954–957.
- Соколов В.А. Независимое наследование и экспрессия апомейоза и партеногенеза у гибридов кукурузы с трипсакумом // Докл. РАН. 2000. Т. 374. № 2. С. 280–282.
- Соколов В.А., Киндигер Б., Хатыпова И.В. Изучение апомиктических кукурузно-трипсакумных гибридов // Генетика. 1998а. Т. 34. № 4. С. 492–498.
- Соколов В.А., Киндигер Б., Хатыпова И.В. 39-хромосомные кукурузно-трипсакумные апомиктически размножающиеся гибриды // Генетика. 1998б. Т. 34. № 4. С. 499–506.
- Berquist R.R. Selection for disease resistance in a maize

- breeding program // Eucarpia Maize and Sorghum Section Congr. X, 17–9 Sept. Varnia, Bulgaria, 1979. P. 198–206.
- Bergquist R.R. Transfer from *Tripsacum dactyloides* to corn of a major gene locus conditioning resistance to *Puccinia sorghi* // Phytopathology. 1981. V. 71. P. 518–520.
- Berthaud J., Savidan Y., Barre M., Leblanc O. *Tripsacum* // Biodiversity in Trust / Eds D. Fucillo, L. Sears, P. Stapleton. Cambridge, U.K.: Cambridge Univ. Press, 1997.
- Blakey C.A., Costich D., Sokolov V., Islam-Faridi M.N. *Tripsacum* genetics: from observations along a river to molecular genomics // Maydica. 2007. V. 52. P. 81–99.
- Branson T.F. Resistance in the grass tribe Maydeae to larvae of the western corn rootworm // Ann. Entomol. Soc. Am. 1971. V. 64. P. 861–863.
- Burkhart S.A., Kindiger B., Wright A.D. Fatty acid composition of oil from the caryopsis of *Tripsacum dactyloides* // Maydica. 1994. V. 39. P. 65–68.
- Burns J.C., Fisher D.S., Pond K.R., Timothy D.H. Diet characteristics, digesta kinetics, and dry matter intake of steers grazing eastern gamagrass // J. Anim. Sci. 1992. V. 70. P. 1251–1261.
- Clark R.B., Alberts E.E., Zobel R.W. *et al.* Eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides*) root penetration into and chemical properties of claypan soils // Plant and Soil. 1998. V. 200. P. 33–45.
- Cohen J.I., Galinat W.C. Potential use of alien germplasm for maize improvement // Crop Sci. 1984. V. 24. P. 1011–1015.
- de Wet J.M.J. *Tripsacum* introgression and agronomic fitness in maize (*Zea mays* L.) // Centre Agric / Eds A.C. Zeven, A.M. Vanharten. Publ. Doc. Wageningen, 1979. P. 203–210.
- Doebley J., Stec A., Gustus C. *teosinte branched1* and the origin of maize: evidence for epistasis and the evolution of dominance // Genetics. 1995. V. 141. № 1. P. 333–346.
- Doebley J.F. The taxonomy and evolution of *Tripsacum* and teosintes, the closest relatives of maize // Proc. Intern. Maize Virus Disease Colloq. and Workshop, 2–6 Aug. 1982 / Eds D.T. Gordon, J.K. Knoke, L.R. Nault, R.M. Ritter. Ohio State Univ., Ohio Agric. Res. and Development Ctr., Wooster, 1983. P. 15–28.
- Duvick S.A., Pollak L.M., White E.P.J. Altering the fatty acid composition of corn belt corn through *Tripsacum* introgression // Maydica. 2006. V. 51. № 2. P. 409–416.
- Faix J.J., Kaiser C.J., Hinds F.C. Quality, yield and survival of Asiatic bluestems and an eastern gamagrass in Southern Illinois // J. Range Manag. 1980. V. 33. P. 388–390.
- Foy C.D. Tolerance of eastern gamagrass to excess aluminum in acid soil and nutrient solution // J. Plant Nutr. 1997. V. 20. P. 1119–1136.
- Galinat W.C. Intergenomic mapping of maize, teosinte and *Tripsacum* // Evolution. 1974. V. 27. P. 644–655.
- Grimanelli D., Garcia M., Kaszas E. *et al.* Heterochronic expression of sexual reproductive programs during apomictic development in *Tripsacum* // Genetics. 2003. V. 165. P. 1521–1531.
- Grass Phylogeny Working Group. Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae) // Annals MO Bot. Garden. 2001. V. 88. P. 373–457.
- Gurney A.L., Grimanelli D., Kanampiu F. *et al.* Novel sources of resistance to *Striga hermonthica* in *Tripsacum dactyloides*, a wild relative of maize // New Phytologist. 2003. V. 160. № 3. P. 557–568.
- Harlan J.R., deWet J.M.J. Pathways of genetic transfer from *Tripsacum* to *Zea mays* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1977. V.74(8), P. 3494–3497.
- Hoisington D., Khairallah M., Reeves T. *et al.* Plant genetic resources: What can they contribute toward increased crop productivity? // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 5937–5943.
- Hooker A.L. Resistance to *Helminthosporium turcicum* from *Tripsacum floridanum* Incorporated into corn // Maize Coop. Newsletters. V. 55. P. 87–88.
- Kindiger B., Sokolov V.A. Progress in development of apomictic maize // Trends Agron. 1997. V. 1. P. 76–94.
- Kindiger B., Beckett J.B. Cytological evidence supporting a procedure for directing and enhancing pairing between maize and *Tripsacum* // Genome. 1990. V. 33. P. 495–500.
- Mangelsdorf P.C., Reeves R. The origin of Indian corn and its relatives // Tex Agric. Exptl. Sta. Bull. 1939. P. 574:1–315.
- Metcalf R.L. Foreword // Methods for the Study of Pest Diabrotica / Eds J.L. Krysan, T.A. Miller. N.Y.: Springer Verlag, 1986. P. vii–xv.
- Moellenbeck D.J., Barry B.D., Darrah L. *Tripsacum dactyloides* (Gramineae) seedlings for host plant resistance to the western corn rootworm (*Coleoptera: Chrysomelidae*) // J. Econ. Entomol. 1995. V. 88. P. 1801–1803.
- Polk D.B., Adcock W.L. Eastern gamagrass // The Cattleman (February). 1964. P. 82–83.
- Reeves R.G., Bockholt A.J. Modification and improvement of a maize inbred by crossing it with *Tripsacum* // Crop Sci. 1964. V. 4. P. 7–10.
- Sokolov V.A., Khatypova I.V. The development of apomictic maize: update, problems and perspective // Genetika (Yugoslavia). 2000. V. 32. № 3. P. 331–353.
- Springer T.L., Dewald C.L. Eastern gamagrass and other *Tripsacum* species // Warm-season (C4) grasses / Eds L.E. Moser, L.E. Sollenberger, B.L. Burson. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, 2004. P. 955–973.

WIDE HYBRIDIZATION AS A SOURCE OF INCREASING CEREAL PLANT BIODIVERSITY

T.K. Tarakanova¹, V.A. Sokolov¹, E.A. Abdyrakhmanova¹, S.A. Blaky²

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: sokolov@bionet.nsc.ru;

² Department of Biology, Ball State University, Muncie, IN 47306-0440, USA

Summary

Wild relatives of agricultural crops are an important source of genetic diversity, and hybridization with them is the basic source of enlarging cultivated plant adaptive properties. In this connection, gamagrass (*Tripsacum dactyloides* L.) – a distant maize relative – has a number of agronomic traits and properties (first of all apomictic reproduction, drought tolerance, disease and pest resistance, high protein and indispensable aminoacids content, etc) that can be introgressed in maize under hybridization. Unique gamagrass × maize hybrids (*Zea mays* L.) with agronomic traits from the wild parent were produced at the Laboratory of Plant Cytology and Apomixis, ICG SB RAS.

О БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ДОМЕСТИКАЦИИ ПШЕНИЦЫ

Р.Л. Богуславский

Национальный центр генетических ресурсов растений Украины, Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, Харьков, Украина, e-mail: leader@kharkov.ukrtel.net; boguslavr@rambler.ru

Излагается гипотеза о неотении – наследственно закрепленной остановке на конечных этапах развития растения в онтогенезе – как биологическом механизме доместикации пшеницы. Приводятся данные сравнительной морфологии, анатомии, физиологии, генетики диких и культурных видов пшеницы. Указывается на возможную общность неотении как механизма доместикации для большинства возделываемых видов различных родов.

Ключевые слова: пшеница дикая, пшеница культурная, эволюция, доместикация, неотения.

Вопрос о биологической сущности доместикации растений представляет интерес как в теоретическом, так и в практическом аспектах. Что конкретно является причиной изменения ключевых радикальных признаков, их перехода из состояния, свойственного дикой форме, в состояние, характерное для культурного растения? Происходит ли изменение отдельных признаков, обуславливающих фенотип возделываемого растения, независимо друг от друга, разнонаправленно или можно обнаружить какие-то механизмы, сходным образом влияющие на весь комплекс признаков, например, «синдром доместикации»? Атавизмы, возврат к фенотипу диких предковых форм либо устойчивое доминирование этих признаков нередко имеют место на различных этапах селекции возделываемых культур, в особенности при межвидовой и межродовой гибридизации. Известно, насколько длительным и трудоемким является «устранение» таких признаков и достижение «культурного» фенотипа. Знание биологических механизмов, обуславливающих изменение радикальных признаков при окультуривании, позволило бы повысить эффективность интрогрессивной отдаленной гибридизации как метода селекции.

К настоящему времени сделано много в познании процесса происхождения культурных растений. Работы Ч. Дарвина, А. Декандоля,

Н.И. Вавилова, П.М. Жуковского, Д. Зоари, М. Фельдмана и многих других раскрыли географический аспект проблемы, указали возможные пути одомашнивания большинства важных в практическом отношении видов; описаны изменения, происходящие при доместикации диких растений. В отношении пшеницы образцом исследования данной проблемы служит работа Н.П. Гончарова и Е.Я. Кондратенко (2008).

Различия по «признакам окультуренности» между культурным пленчатый видом пшеницы *Triticum spelta* L. и голозерными *T. aestivum* L., *T. compactum* Host, *T. sphaerococcum* Perciv. на гексаплоидном уровне объясняют эффектом дозы гена *Q*, возникшего за счет утроения одного из локусов хромосомы 5A (Muramatsu, 1963) и обладающего плейотропным действием (Kajanus, 1923). Причем действие гена *Q* определяется как ингибирующее «примитивные» признаки – ломкость колоса и грубость колосковых чешуй (Генетика..., 1986). Хотя Н.А. Наврузбеков (1979) считает, что ломкость колоса и пленчатость, по-видимому, контролируются разными генетическими системами, хотя и тесно сцепленными.

Ген *Q* считается доминантным (Генетика..., 1986), что предполагает доминирование признаков «окультуренности» у гибридов от конгруэнтных скрещиваний культурных форм

с дикими. В то же время наши и литературные данные (Наврузбеков, 1979) свидетельствуют о том, что при гибридизации диких видов пшеницы с культурными в пределах одной секции доминирует фенотип дикой формы.

В последнее время сделаны существенные шаги к познанию механизмов доместикации. Один из них – увеличение дозы определенных генов, контролирующих прежде всего размеры растения или его органов, используемых человеком, накопление веществ, ради которых это растение возделывается. В некоторых случаях «синдром доместикации» связан с полиплоидией. Однако в собственно доместикации основных хлебных злаков – пшеницы, ячменя, ржи, кукурузы – она не играла, по-видимому, ведущей роли, поскольку число хромосом наиболее примитивных культурных форм не отличается от такового у предполагаемых предковых диких форм. Вместе с тем показано повышение содержания ДНК и увеличение количества повторов в геноме культурных форм в сравнении с дикорастущими предками пшеницы (Гаевская, Махлаева, 1978). Этим можно объяснить увеличение размеров растения либо отдельных его органов, повышенное накопление тех или иных веществ. Однако отличие культурных форм от диких носит скорее количественный, а не качественный характер, и увеличение продуктивности вряд ли является главным изменением, происшедшим при доместикации. А. Патерсон с сотрудниками показали, что у таких сравнительно далеких друг от друга злаковых растений, как рис, сорго и кукуруза, мутации, обуславливающие изменение дикого фенотипа в культурный, происходят в гомеологичных локусах, и эти изменения характеризуются параллелизмом – «конвергентны» (Paterson *et al.*, 1995).

Выявление к настоящему времени отличий доместичированных форм от диких предковых на уровне ДНК (см. обзоры Гончаров, Кондратенко, 2008; Goncharov *et al.*, 2008) способствует пониманию генетической сущности изменений, обусловленных доместикацией, как мутаций в регуляторных MADS-сайтах (Марков, 2007). Однако при всем этом остается мало изученным вопрос о реализации этих наследственных изменений «путь от гена к признаку». В этом нет ничего удивительного, поскольку проблема лежит в русле исследования механизмов

(речь не идет о феноменологии) морфогенеза растений, для которого современные методы еще недостаточно совершенны. Без сомнения, развитие методической базы в скором будущем приведет к продвижению и в этом направлении. По нашему мнению, определенную пользу может принести подготовка рабочей гипотезы, которая, если окажется удачной, сэкономит труд и время исследователей. Это мы попытались сделать в настоящей статье.

Удобным объектом для исследования изменений, обусловленных доместикацией, является род *Triticum* L. – пшеница. В нем можно проследить ряды форм, представляющих собой переход от диких видов к культурным в пределах одной геномной группы, на одном уровне пloidности, т. е. с соблюдением принципа единственного различия (табл. 1). Причем в целом такой переход был двухступенчатым: от диких форм к пленчатым культурным, и от них – к голозерным культурным. Лишь на гексаплоидном уровне у пшеницы в природе не обнаружен их дикий предок.

Рассмотрим онтогенез дикой пшеницы в сравнении с культурной. Завершающим этапом индивидуального развития дикого растения является создание предпосылок для самовоспроизведения. А именно: при созревании колосьев диких видов в сочленениях колосового стержня образуется отделительный слой из опробковевших клеток; в этих местах членики стержня с прикрепленными к ним колосками (содержащими зерновки) отделяются и падают на почву, вонзаясь в нее своей нижней заостренной частью. При наступлении благоприятных условий (конец лета–начало осени) зерновки в контактирующих с почвой колосках прорастают, давая начало новому циклу вегетации.

В отличие от диких у культурных пленчатых видов процесс образования отделительного слоя, начавшись, затем останавливается. Именно такой вывод можно сделать на основании исследований О.Д. Градчаниновой (1973). Вследствие недоразвития отделительного слоя колос при созревании не разделяется на отдельные членики «самопроизвольно», а остается целым, однако он легко разламывается при надавливании.

Как у диких, так и у культурных пленчатых пшениц, колосковые чешуи благодаря развитию механических тканей очень жесткие и прочно

Таблица 1

Расположение видов пшеницы по степени окультуренности*

Уровень плоид- ности	Геном	Виды пшеницы		
		дикие	культурные	
			пленчатые	голозерные
2n = 14	A ^b	<i>T. boeoticum</i> Boiss.	<i>T. monococcum</i> L.	<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk.
2n = 28	GA ^b	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	<i>T. militinae</i> Zhuk. et Migusch.
2n = 28	BA ^u	<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	<i>T. dicoccum</i> (Schrank) Schübl.; <i>T. ispahanicum</i> Heslot; <i>T. karamyshevii</i> Nevski	<i>T. durum</i> Desf., <i>T. turgidum</i> L., <i>T. turanicum</i> Jakubz., <i>T. polonicum</i> L., <i>T. persicum</i> Vav. (syn. <i>T. carthlicum</i> Nevski), <i>T. aethiopicum</i> Jakubz.
2n = 42	BA ^u D	отсутствует	<i>T. spelta</i> L., <i>T. macha</i> Dekapr. et Men.	<i>T. aestivum</i> L., <i>T. compactum</i> Host, <i>T. sphaerococcum</i> Perciv., <i>T. petropavlovskiyi</i> Udacz. et Migusch.

* В таблицу включены виды, считающиеся естественными, и не включены искусственно созданные амфидиплоиды (*T. kiharae* Dorof. et Migusch. и др.), которые ряд исследователей возводят в ранг видов.

охватывают колоски, так что вымолот зерновок затруднен. Строго говоря, пленчатость не является главным признаком, по которому дикие виды пшеницы отличаются от культурных. (Следует уточнить, что у пленчатых пшениц в отличие от большинства других видов родов семейства Злаковых – пленчатые ячмень и овес, рис, ряд эгилопсов и др. – перикарпий зерновки не сростается с цветковыми чешуями).

У культурных голозерных видов пшеницы отделительный слой в сочленениях колосового стержня совсем не образуется (процесс его образования прекращается в самом начале), и колос при созревании оказывается настолько прочным, что требуется значительное усилие для того, чтобы его расчлнить, точнее, разорвать на части. Слабая суберинизация клеточных оболочек дерматогена колосковых чешуй определяет их мягкость, что в свою очередь обуславливает легкий вымолот зерновок.

Таким образом, культурные формы пшеницы в сравнении с дикими характеризуются наследственно закрепленной незавершенностью онтогенеза, его остановкой на одной из поздних фаз развития. В биологии это носит название терминальной аббревиации, или неотении (Кольцов, 1936; Тахтаджян, 1964).

Неотения сыграла большую роль в естественной эволюции растительного и животного

мира. В частности, именно неотенией объясняют сущность ароморфозов: происхождение травянистых форм от древесных, покрытосеменных растений от голосеменных, однодольных от двудольных (Тахтаджян, 1964). Мы предлагаем рассматривать неотению как вероятный биологический механизм доместикации, по крайней мере такого важнейшего для человечества растения, как пшеница. Однако все сказанное выше применимо и к другим хлебным злакам: ячменю (переход от дикого *Hordeum spontaneum* С. Koch к культурному пленчатому, а затем голозерному ячменю), ржи (от дикой *Secale montanum* Guss. через сорнополевую *S. segetale* (Zhuk.) Rozhev. к культурной *S. cereale* L.), рису, сорго, кукурузе и другим.

Наследственно закрепленное «недоразвитие» культурных форм пшеницы в сравнении с дикими той же секции выражается в выпадении конечного этапа онтогенеза. У культурных видов механические ткани развиты гораздо слабее, чем у диких, что обуславливает «грацильность», утонченность их облика. Одно из важнейших следствий этого – появление голозерных форм, характеризующихся легким вымолотом зерновок. У диких видов колосковые чешуи, снабженные мощными механическими тканями, особенно в их основании, очень прочно охватывают колоски, и вымолотить

зерновки можно только приложив значительное усилие. Между этими двумя крайними вариантами находится промежуточная ступень – культурные пленчатые виды, у которых, как сказано выше, колос при созревании не распадается на отдельные колоски, однако, благодаря жесткости колосковых чешуй, вымолот зерна затруднен.

Пленчатые культурные формы образуют по данному признаку переходный ряд от видов более близких к диким (*T. timopheevii*) до форм с менее трудным вымолотом (азиатский подвид *T. spelta*). Крайний вариант грацилизации у диплоидных пшениц – *T. sinskajae*. Как считают авторы, описавшие этот вид, у него наблюдается полная редукция колосковых чешуй и внутренних элементов двух нижних (крайних) цветков колоска, в результате чего наружные колосковые чешуи этих цветков как бы замещают колосковые чешуи, выполняя их функции (Куркиев, 1982). Все признаки этого вида: голозерность, очень плотный нежный колос, тонкая соломина, пониженный рост, а также рецессивность комплекса морфологических признаков по отношению к исходному виду, *T. monosocum*, позволяют считать *T. sinskajae* неотеничной формой. Причем здесь мы встречаемся с фактом появления в природе неотеничной формы, еще не подвергнутой воздействию искусственного отбора, что может служить моделью возникновения голозерной пшеницы из пленчатой в условиях культуры.

Различия в степени развития механической ткани затрагивают также вегетативные органы пшеничного растения. Так, культурная однозернянка *T. monosocum* отличается очень тонкой соломиной, узким кольцом склеренхимы в ее коре и соответственно небольшим сопротивлением на излом по сравнению с предковыми дикими однозернянками *T. boeoticum* и *T. urartu* (Градчанинова, 1981). У тетраплоидных диких видов *T. dicoccoides* и *T. araraticum* склеренхимное кольцо образуется раньше, чем у культурных тетраплоидных видов.

По нашим данным, у диких видов рост нижних междоузлий прекращается сравнительно рано, колосоножка же продолжает расти до начала цветения, так что ее длина становится почти равной остальной (нижней) части стебля. Листья, таким образом, сосредоточены в

нижнем ярусе растения. У культурных видов рост нижних междоузлий продолжается дольше; колошение наступает как правило позже, чем у диких видов; колосоножка сравнительно быстро прекращает рост, и растения переходят к цветению. В результате листья распределены по длине стебля более равномерно, чем у диких видов.

Интенсивность фотосинтеза у культурных видов значительно меньше, чем у генетически близких им диких видов пшеницы (Evans, Dunstone, 1970; Быков и др., 1980). У *T. monosocum* интенсивность оттока ассимилятов из флагового листа в колос тоже несколько ниже, чем у *T. boeoticum* (Лимарь, Матвиенко, 1980).

А.Л. Тахтаджян (1964) вслед за Дж. Холдейном (Haldane, 1932) и Н.К. Кольцовым (1936) рассматривал генетический механизм неотении как «умолкание», блокировку генов, кодирующих терминальные этапы онтогенеза. Это ведет к филогенетическому «омоложению», деспециализации группы организмов, однако только фенотипической, в то время как генотип сохраняет свою целостность. Мутации, возникающие в «молчащей» части генома, обуславливают высокую потенциальную генетическую изменчивость неотеничной формы, которая при наступлении благоприятных условий может реализоваться в фенотипе и становится материалом для дальнейшей эволюции.

Таким образом, неотения как наследственно обусловленная остановка в онтогенезе вовсе не означает наступления «филогенетического тупика», а, наоборот, является предпосылкой для нового этапа эволюции.

Какая же именно часть генотипа умолкает в момент возникновения domesticiрованной формы? Пытаясь ответить на этот вопрос, повторим, что завершающим этапом онтогенеза дикой пшеницы (ячменя, ржи) является образование отделительного слоя в сочленениях колосового стержня, что ведет к спонтанному рассыпанию колоса при созревании. Аналогичным образом неосыпаемость культурного риса (*Oriza sativa* L.) детерминирована нарушениями формирования отделяющего слоя в месте прикрепления колоска к оси метелки, обусловленными мутацией в регуляторном районе гена *qSH1*. Ортологом гена *qSH1* у арабидопсиса является ген *REPLUMLESS* (*RPL*),

содержащий гомеобокс типа BEL1 и участвующий в формировании отделяющегося слоя растрескивающейся зоны створки стручка (Konishi *et al.*, 2006).

Физиология этого явления пока не изучена. Однако довольно хорошо изучен сходный процесс – образование отделительного слоя с последующим отчленением, имеющий место в черешках листьев древесных пород перед листопадом и в плодоножках плодовых деревьев в период созревания плодов (Синнот, 1963; Манойленко и др., 1985).

Возможно, что у доместичированных растений, как это было ранее показано для одомашненных животных (Беляев, 1972; Беляев, Трут, 1989), изменяется гормональный статус. В частности, на завершающем этапе онтогенеза в осях соцветий происходит снижение уровня ауксинов и накопление ингибиторов типа абсцизина, что приводит к усиленному делению (при отсутствии растяжения) клеток, вызывающих образование отделительного слоя. Таким образом, можно предположить, что при неотении «умолкает» та часть генотипа, которая ответственна за регулирование выработки либо активности фитогормонов.

Развитие нерадикальных признаков, характерных для культурного растения, – увеличение размеров растения или отдельных его органов, определяющих и продуктивность; изменение химического состава – носит вторичный характер и произошло, очевидно, уже после введения в культуру. У культурной пшеницы, благодаря отсутствию отделительного слоя, непрерывность проводящих пучков, а следовательно, поступление питательных веществ к зерновкам сохраняется до момента созревания. Возможно, этим объясняется по крайней мере крупность зерна и повышенное содержание в нем крахмала у культурной пшеницы в сравнении с дикой.

Учитывая скудость фактических данных об отличиях культурных форм пшеницы от диких по признакам, характеризующим морфогенез, физиологию и т. д., следует все выше изложенное считать лишь рабочей гипотезой. Однако она, с точки зрения автора, может быть плодотворной при определении направлений научного поиска.

Литература

- Беляев Д.К. Проблема доместикации животных и растений. М.: Наука, 1972. С. 39–45.
- Беляев Д.К., Трут Л.Н. Конвергентный характер формообразования и концепция дестабилизирующего отбора // Вавиловское наследие в современной биологии. М.: Наука, 1989. С. 155–169.
- Быков О.Д., Кошкин В.А., Прядехина А.К. Газообмен флагового листа и элементы продуктивности видов пшеницы и эгилопса // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1980. Т. 67. Вып. 2. С. 12–21.
- Гаевская Е.И., Махлаева Р.Ф. О гомологии фракций медленно реассоциирующих фрагментов ДНК видов родов *Triticum* L. и *Aegilops* L. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1978. Т. 63. Вып. 3. С. 86–96.
- Генетика культурных растений. Зерновые культуры. Л.: Агропромиздат, 1986. С. 92–93.
- Гончаров Н.П., Кондратенко Е.Я. Происхождение, доместикация и эволюция пшениц // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 159–179.
- Градчанинова О.Д. Анатомическое строение колосового стержня дикорастущих и культурных видов пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1973. Т. 50. Вып. 1. С. 187–194.
- Градчанинова О.Д. Анатомическое строение корня и стебля некоторых видов пшеницы и полежание // Бюл. ВИР. 1981. Вып. 106. С. 76–80.
- Кольцов Н.К. Организация клетки. М.; Л.: Гос. изд-во биол. и мед. лит-ры, 1936. 652 с.
- Куркиев У.К. О природе голозерности *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk. // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1982. Т. 73. Вып. 3. С. 138.
- Лимарь Р.С., Матвиенко И.И. Особенности транспорта ассимилятов у разных видов пшеницы // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1980. Т. 67. Вып. 2. С. 93–99.
- Манойленко К.В., Агаев М.Г., Полевой В.В. Эволюция функций в растительном мире. Л., 1985. 244 с.
- Марков А. Происхождение культурных растений: новый взгляд на старые проблемы. 2007. <http://elementy.ru/genbio/synopsis?artid=98>.
- Наврузбеков Н.А. Наследование прочности колосового стержня и вымолачиваемости при межвидовой гибридизации пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.: ВИР, 1979. 24 с.
- Синнот Э. Морфогенез растений. М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1963. 603 с.
- Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры. Л.: Колос, 1969. 480 с.
- Тахтаджян А.Л. Основы эволюционной морфологии покрытосеменных. М.; Л.: Наука, 1964. 236 с.

- Evans L.T., Dunstone R.L. Some physiological aspects of evolution in wheat // *Austral. J. Biol. Sci.* 1970. V. 23. P. 725–741.
- Goncharov N.P., Golovnina K.A., Kilian B. *et al.* Evolutionary history of wheats – the main cereal of mankind // *Biosphere Origin and Evolution* / Eds N. Dobretsov *et al.* Springer, 2008. P. 407–419.
- Haldane J.B.S. The time of action of genes and its bearing on some evolutionary problems // *Amer. Nat.* 1932. V. 66. P. 5–24.
- Kajanus B. Genetische untersuchungen an weizen // *Bibliothica Genetica*. 1923. Bd. 5. 187 s.
- Konishi S., Izawa T., Lin S.Y. *et al.* An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication // *Science*. 2006. V. 312. P. 1392–1396.
- Muramatsu M. Dosage effect of the spelta gene *q* of hexaploid wheat // *Genetics*. 1963. V. 48. P. 469–482.
- Paterson A.H., Lin Y.-R., Li Z. *et al.* Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci // *Science*. 1995. V. 269. P. 1714–1718.

ABOUT MECHANISMS OF WHEAT DOMESTICATION

R.L. Boguslavskiy

National Centre for Plant Genetic Resources of Ukraine, V.Y. Yuriev Institute of Plant Production, Kharkiv, Ukraine, e-mail: leader@kharkov.ukrtel.net; boguslavr@rambler.ru

Summary

Neotheny is an inherited stoppage on terminal stages of plant development in ontogenesis. It is proposed as possible mechanism of plant domestication in ancient time. Data of comparative morphology, anatomy, physiology, genetics of wild and cultivated wheat forms are given. This domestication mechanism may be common for different species, genera and larger systematical units.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L. ПО УСТОЙЧИВОСТИ К *BLUMERIA GRAMINIS* DC. F. SP. *TRITICI* GOLOVIN

Т.В. Лебедева

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова,
Санкт-Петербург, Россия, e-mail: nosovam@mail.ru

Проанализированы 887 образцов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) коллекции ВИР по устойчивости к популяции мучнисторосяного гриба *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin с генами авирулентности к *Pm12 Pm16*. Среди 355 яровых форм обнаружено 17 устойчивых и 13 умеренно восприимчивых образцов. Дана характеристика генетического разнообразия видов пшеницы и ржи как источников эффективных генов устойчивости к заболеванию.

Ключевые слова: мягкая пшеница, устойчивость, мучнистая роса, биоразнообразие.

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) – одна из самых важных зерновых культур, однако ее производство лимитировано биотическими и абиотическими стрессами. Мучнистая роса пшеницы, вызываемая грибом *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin, является вредоносной в районах России с влажным климатом. Заболевание способно в короткий промежуток времени охватить значительные площади, вызывая стабильные эпифитотии. Вредоносность мучнисторосяного гриба выражается в изменении ассимиляционной поверхности листьев, снижении их фотосинтетической активности. У сильно пораженных растений изменяется ход физиологических процессов: возрастает потеря воды, резко увеличивается дыхание, в связи с чем существенно уменьшается количество углеводов, поступающих в точки роста и зерновки. По этим причинам у пшеницы замедляется интенсивность роста стеблей, ослабевает способность к кушению, снижается абсолютный вес зерновок, уменьшается озерненность колосьев.

Важным средством борьбы с болезнями растений является выведение устойчивых к патогенам сортов сельскохозяйственных культур. К сожалению, устойчивость ограничена во времени из-за появления биотипов гриба с новой вирулентностью, способных захватить большие

площади посевов злаковых культур. Поэтому постоянный поиск новых эффективных генов устойчивости к болезням и внедрение их в перспективные сорта являются необходимыми этапами селекции.

С помощью генетических и фитопатологических тестов у *T. aestivum* описаны 34 локуса, которые ответственны за устойчивость к этому заболеванию (Hysing *et al.*, 2007; Yao *et al.*, 2007). Некоторые локусы – сложные: *Pm1* включает 5, *Pm3* – 7, *Pm5* – 5, *Pm8* – 2 аллеля (Zhou *et al.*, 2005). Изученные гены, определяющие устойчивость мягкой пшеницы к заболеванию, – доминантные, за исключением рецессивных генов *Pm5*, *Pm9* и *Pm26*. Гены устойчивости *Pm1a*, *Pm3a*, *Pm3b*, *Pm3c*, *Pm3d*, *Pm3e*, *Pm3f*, *Pm3g*, *Pm5b*, *Pm5c*, *Pm5d*, *Pm9*, *Pm24*, *Pm28* принадлежат собственно геному мягкой пшеницы. Более половины генов устойчивости привнесены в геном мягкой пшеницы от родственных ей видов и родов. Источником генов *Pm1b* и *Pm1c* явился диплоидный вид *T. monococcum* L., *Pm25* привнесен от *T. boeoticum* Boiss., *PmU* от *T. urartu* Thum. От тетраплоидных видов пшеницы трансгрессированы гены *Pm3d* (*T. durum* Desf.), *Pm16*, *Pm26*, *Pm30* (*T. diccoides* Körn.), *Pm4a*, *Pm5a* (*T. dicoccum* Schübl.), *Pm6*, *Pm27* (*T. timopheevii* Zhuk.), *Pm4b* (*T. carthlicum*

Nevski), *Pm1d* (*T. spelta* L.). Очень перспективным источником эффективных генов *Pm* являются эгилопсы. Вид *Aegilops speltoides* Tausch явился донором гена *Pm12*, *Ae. tauschii* Coss. – *Pm19*, *Pm33*, *Pm34*, *Pm35*, *Ae. longissima* Schweinf. et Musehl. – *Pm13*, *Ae. ovata* – *Pm29*. От *Haynaldia villosa* (L.) Schur. передан ген *Pm21*.

В прошлом веке бурное развитие цитогенетических исследований пшенично-ржаных гибридов, создание тритикале и гибридизация их с мягкой пшеницей привели к появлению большого числа форм пшеничного типа с устойчивостью к мучнистой росе, переданной от ржи (Ригин, Лебедева, 1990; Лебедева, 2005). Идентифицированы гены, контролирующие устойчивость от *S. cereale*: *Pm7*, *Pm8* и *Pm20* (Hsam, Zeller, 2002; Miranda *et al.*, 2006, 2007).

Результатом широкого использования ограниченного числа *Pm*-генов явилось преобладание в популяциях гриба *B. graminis* f. sp. *tritici* клонов с вирулентностью к генам *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a – d*, *Pm4a – b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, *Pm9*.

По литературным сведениям сорта мягкой пшеницы Финляндии преимущественно защищает ген *Pm4b*, в устойчивых сортах Дании преобладают *Pm5* и *Pm6*. Селекционеры Швеции эффективно используют гены устойчивости *Pm1a*, *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, *Pm9*, Норвегии – *Pm4b*, *Pm5*. В устойчивом к мучнистой росе сорimente Китая встречаются гены *Pm2*, *Pm4a*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8* (Husing *et al.*, 2007).

В связи с вышеизложенным мы попытались оценить генетическое разнообразие мягкой пшеницы по устойчивости к мучнистой росе и выделить наследственные варианты с эффективными генами в условиях России. С этой целью было исследовано 355 яровых и 532 озимых различных по происхождению образцов этого вида коллекции ВИР.

Оценку заболевания растений проводили при искусственном заражении проростков популяцией гриба *B. graminis* f. sp. *tritici* согласно методическим указанием (Кривченко и др., 1980). Выращивание растений и инкубирование гриба на них проводили на светоустановке при 12 ч со светом и температурой 16 °С; 12 ч без света и температурой 13 °С. 7-дневные проростки заражали путем стряхивания конидий с сильно пораженных мучнистой росой

растений мягкой пшеницы. Через 7 дней после инокуляции определяли степень поражения первого листа, используя качественную шкалу Майнса и Дитца (Mains, Dietz, 1930). Растения с поражением 0 и 1 балл относили к классу устойчивых, с поражением 3 и 4 балла – к классу восприимчивых.

Инокулюмом являлась популяция гриба, собранная с восприимчивых растений пшеницы, выращиваемых в поле в условиях Северо-Запада европейской части России и в теплице. Популяцию гриба анализировали с использованием изогенных и тест-линий (табл. 1).

Как следует из данных табл. 1, устойчивыми к этому инокулюму были тест-линии Wembley 14.31 (*Pm12* от *Ae. speltoides*) и BR93N (*Pm16* от *T. dicoccoides*). Остальные линии были поражены на 3 и 4 балла.

В этом эксперименте среди исследованных озимых форм пшеницы устойчивым оказался образец к-62396 Mac Nair 1587 (США) – балл 1; умеренно устойчивыми (балл 2) – образцы из США: к-59329 TAM 107, к-59341 Centura, к-62377 KS90 WGRC10, к-63934 KS93476; из России: к-60065 Зернокормовая 169, к-57208 Кубань 83, к-58747 Кубань 101. Остальные исследованные 524 образца озимой пшеницы оказались восприимчивыми к мучнистой росе.

Анализ устойчивости к мучнистой росе яровых форм мягкой пшеницы выявил следующие группы фенотипов.

Иммунные (балл 0): сорта России – к-64649 Лютесценс 13, к-64656 485ae5, к-64110 Юго-Восточная 2, к-64111 Юго-Восточная 4; образцы Чехии – к-64277 Aranka; Швеции – к-64433 SW Vals, к-64434 SW Milljet, к-64436 SW Variett, к-64435 SW Estrad.

Устойчивые (балл 1): сорта России – к-64657 Лютесценс 393 ae 9-1, к-64101 Воронежская 10; ЮАР – к-64138 SST-25, Сирии – 64141 Cham 6; Австралии – к-64211 Excalibur, к-64212 Angas, к-64214 Cascades.

Умеренно устойчивые (балл 2): образцы России – к-64120 Харьковская 22, к-64643 Тулайковская 100; Австралии – к-64130 Warigal 85-062, к-64131 RAC 610, к-64208 Jarralinka; Пакистана – к-64145 Niab 542; Непала – к-64244 LGP120Ar (WG); Аргентины – к-64259 Buck Fogan; Швеции – к-52309 Kadett, к-52798 Varvete 11691, к-64707 Zebra; Германии – к-63474 Devon;

Таблица 1

Реакция тест-сортов и линий пшеницы на заражение популяцией *B. graminis* f. sp. *tritici* Северо-Запада России

Сорт/линия (проростки)	<i>Pm</i> гены	Балл	Сорт/линия (проростки)	<i>Pm</i> гены	Балл
Axminster / 8Cc	<i>Pm1a</i>	4	Norin 26	<i>Pm10+15</i>	4
Ulka / 8Cc	<i>Pm2</i>	4	Wembley 14.31	<i>Pm12</i>	0
Asosan / 8Cc	<i>Pm3a</i>	4	BRG 3N	<i>Pm16</i>	0
Chul / 8Cc	<i>Pm3b</i>	3	Amigo	<i>Pm17</i>	3
Sonora / 8Cc	<i>Pm3c</i>	4	XX186	<i>Pm19</i>	4
Khapli / 8Cc	<i>Pm4a</i>	4	к-62165, BR-34	x	3
Armada	<i>Pm4b</i>	4	к-64656, 485ae5	<i>Pm12</i>	0
Hope	<i>Pm5</i>	4	к-64649, Лютеценс 13	<i>PmKu</i>	0
Tr114 / 2 Starke	<i>Pm6</i>	4	к-64433, SW Vals	x	0
Transec	<i>Pm7</i>	4	к-64434, SW milljet	x	0
Disponent	<i>Pm8</i>	4	к-64435, SW Estrad	x	0
Normandie	<i>Pm1+2+9</i>	3	к-64436, SW Variett	x	1
Penjamo 62	<i>Pm10</i>	4	к-64657, Лютеценс 393ae91	<i>PmCp</i>	1

Италии – к-63478 Quattro. Остальные изученные сорта и образцы яровой пшеницы в фазе проростков обладали высокой восприимчивостью к популяции мучнисторосяного гриба.

Необходимо отметить, что в родословной линии 485ae5 (к-64656, Россия) присутствует сорт Wembley 1431, устойчивость которого обусловлена геном *Pm12* от *Ae. speltooides*. В генотип устойчивого сорта Лютеценс 13 (к-64649) введен ген *PmKu* от *T. spelta* ssp. *kuckuckianum*. Невосприимчивость к мучнистой росе Лютеценс 393ae 9-1 (к-64657) контролируется рецессивным геном *PmCp* (Шевченко, 1993; Сюков 2003). Устойчивость к мучнисторосяному грибу анализируемых сортов (балл 0 и 1) сохранялась в течение всего онтогенеза растений.

Линия из Бразилии BR-34 (к-62165), которая сохраняла устойчивость в течение ряда лет, была скрещена с восприимчивым образцом Кзыл-Бас (к-44279). Расщепление в F₂ на устойчивые (275) и восприимчивые (78) проростки указывает на наличие одного доминантного гена резистентности у BR-34 ($\chi_{3;1} = 1,59$). Обнаружение нами клона гриба с генами авирулентности *Pm12* и *Pm16*, поразившего линию BR-34 на 3 балла, указывает на различие факторов устойчивости к *B. graminis* f. sp. *tritici* *PmX* (BR-34), *Pm12* и *Pm16* (Lebedeva, Zuev, 2008).

Большое число генов мягкой пшеницы, определяющих устойчивость к мучнистой росе, происходят от родственных ей видов и родов. Нами была выявлена изменчивость между видами пшеницы и ржи по реакции на заражение этой болезнью растений в фазе проростков. Как оказалось, все виды пшеницы, за исключением *T. turgidum* L., являются перспективными источниками эффективных генов устойчивости к болезни. Высокоустойчивые образцы у видов *T. dicoccum* (Schrank) Schuebl., *T. carthlicum* Nevski, *T. aethiopicum* Jakubz. выявлены в пределах от 15 до 18 %. Такие виды обладали сравнительно большим количеством умеренно устойчивых форм (до 25 %). Среди 812 исследованных образцов *T. aestivum* 5,6 % устойчивых и 9,3 % умеренно устойчивых форм (Лебедева, 1994).

Более подробно нами исследован генетический потенциал вида *T. monococcum* L. по устойчивости к *B. graminis* f. sp. *tritici*. Путем гибридологического анализа и использования тест-клонов среди 102 образцов коллекции ВИР выявлен значительный полиморфизм по этому признаку. Определены образцы с 1 или 2 доминантными или рецессивными генами устойчивости. Выделены группы образцов с одинаковыми генами устойчивости (Лебедева, Пеша, 2006).

Таблица 2

Расщепление по устойчивости к мучнистой росе в фазе проростков гибридов F₂ от скрещивания устойчивых образцов *T. dicoccum* с восприимчивым к-15840

Комбинация скрещивания	Соотношение устойчивых и восприимчивых растений	χ^2	
		3 : 1	1 : 3
к-417 × к-15840	102 : 26	1,5	–
к-7514 × - “ -	129 : 41	0,07	–
к-10456 × - “ -	204 : 79	1,28	–
к-12133 × - “ -	246 : 71	1,15	–
к-19577 × - “ -	21 : 85	–	1,52
к-18774 × - “ -	33 : 108	–	0,25
к-45926 × - “ -	24 : 78	–	0,12

Дифференциация по реакции на заражение грибом найдена у вида *T. dicoccum*. 422 образца вида заразили клоном гриба, авирулентным к генам *Pm3d*, *Pm4b*, *Pm6*, *Pm12* и *Pm16*; 15,6 % образцов оказались устойчивыми к этому инокулюму. Устойчивые образцы *T. dicoccum* разного происхождения скрестили с восприимчивой формой к-15840 из Марокко. Проростки F₂ гибридов анализировали на 7-й день после инокуляции данным клоном (табл. 2).

Таким образом, обнаружен доминантный аллель *Pm*, контролирующей устойчивость образцов к-417 (Оренбургская обл.), к-7514 (Свердловская обл.), к-10456 (Татарстан) и к-12133 (Болгария). Непоражаемость болезнью к-18774 (Беларусь) и к-45926 (Армения) обусловлена рецессивными аллелями генов *Pm*.

В селекционной работе используются значительно меньше генов *Pm*, так как факторы устойчивости, интрогрессированные в геном мягкой пшеницы, имеют разные эффективность и продолжительность защиты растений от поражения грибом. Оказалось, что гриб преодолевает устойчивость сортов с чужеродными генами так же легко, как и устойчивость, обусловленную генами от близкородственных видов пшениц. Изучение чужеродной генетической изменчивости представляет не только теоретический, но и практический интерес для селекции как направление поиска новых эффективных генов устойчивости и улучшения пшеницы. Анализ закономерностей наследования невосприимчивости к болезни на уровне вида, механизма передачи чужеродных генов и их

взаимодействия с генотипом мягкой пшеницы имеет непосредственное значение для создания иммунных сортов мягкой пшеницы.

Литература

- Кривченко В.И., Суханбердина Э.Х., Вершинина В.А., Лебедева Т.В. Методические указания. Изучение устойчивости злаковых культур к мучнистой росе. Л: ВИР, 1980. 55 с.
- Лебедева Т.В. Генетика устойчивости пшеницы к мучнистой росе // Генетика. 1994. Т. 30. № 10. С. 1343–13511.
- Лебедева Т.В. Генетика устойчивости пшеницы к мучнистой росе // Идентифицированный генофонд растений и селекция / Под ред. Б.В. Ригина, Е.И. Гаевской. СПб: ВИР, 2005. С. 527–543.
- Лебедева Т.В., Пеуша Х.О. Генетический контроль устойчивости пшеницы *Triticum monoccum* L. к мучнистой росе // Генетика. 2006. Т. 42. № 1. С. 1–7.
- Ригин Б.В., Лебедева Т.В. Взаимодействие генов пшеницы и ржи в контроле устойчивости к мучнистой росе // Сб. науч. трудов по прикл. ботан., генет. и селекции. 1990. Т. 132. С. 60–64.
- Сюков В.В. Генетические аспекты селекции яровой мягкой пшеницы в Среднем Поволжье: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 2003. 52 с.
- Шевченко С.Н. Создание устойчивого к мучнистой росе селекционного материала яровой мягкой пшеницы в условиях среднего Поволжья: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. СПб: ВИР, 1993. 15 с.
- Hsam S.L.K., Zeller F.J. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // The Powdery mildews. A comprehensive treatise / Ed. R.R. Bélanger, W.R. Bushnell, A.J. Dik, T.L.W. Carver. Minnesota: APSpress, 2002. P. 219–238.

- Hysing S.-C., Merker A., Liljeroth A. *et al.* Powdery mildew resistance in 155 Nordic bread wheat cultivars and landraces // *Hereditas*. 2007. V. 144. P. 102–119.
- Lebedeva T.V., Zuev E.V. Genetic diversity of *Triticum aestivum* L. on powdery mildew resistance (*Blumeria graminis* DC. f. sp. *tritici* Golovin) // The Sixth Intern. Conf. on bioinformatics of genome regulation and structure. BGRS. 2008. Novosibirsk, Russia. June 22–28, 2008. Novosibirsk, 2008. P. 139.
- Mains E.B., Dietz S.M. Physiologic form of barley mildew *Erysiphe graminis* DC // *Phytopath.* 1930. V. 20. № 3. P. 229–239.
- Miranda L.V., Murphy J.P., Marshall D., Leath S. *Pm34*: new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2006. V. 113. P. 1497–1504.
- Miranda L.V., Murphy J.P., Marshall D. *et al.* Chromosomal location of *Pm35*, a novel *Aegilops tauschii* derived powdery mildew resistance gene introgressed into common wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2007. V. 114. P. 1451–1456.
- Yao G., Zhang J., Yang L. *et al.* Genetic mapping of two powdery mildew resistance genes in einkorn (*Triticum monococcum* L.) accessions // *Theor. Appl. Genet.* 2007. V. 114. № 2. P. 351–358.
- Zhou R., Zhu Z., Kong X. *et al.* Development of wheat near-isogenic lines for powdery mildew resistance // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 110. P. 640–648.

GENETIC DIVERSITY OF COMMON WHEAT *TRITICUM AESTIVUM* L. FOR RESISTANCE TO *BLUMERIA GRAMINIS* DC. F. SP. *TRITICI* GOLOVIN

T.V. Lebedeva

Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry, St.-Petersburg, Russia,
e-mail: nosovam@mail.ru

Summary

887 wheat accessions from the collection of Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry were analysed for powdery mildew resistance. Seedlings of 532 winter and 355 spring wheat varieties were inoculated with *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin population with avirulence genes *Pm12* and *Pm16*. Among spring wheat set 17 resistant and 13 moderately resistant varieties have been found. Genetical diversity of wheat and rye species as a source of powdery mildew resistance genes was discussed.

**ФЕРМЕНТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ
В ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЯХ
ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ
И РАЗНОГЕНОМНЫХ ОБРАЗЦОВ
× *TRITORDEUM* ASCHERSON ET GRAEBNER**

А.А. Коновалов, О.Г. Силкова, А.И. Щапова, Е.А. Моисеева, Е.Я. Кондратенко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: konov@bionet.nsc.ru

Изучены изоферментные спектры 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, шикиматдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы, ароматической алкогольдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, малик-фермента, глутаматдегидрогеназы и глюкозофосфатизомеразы у пшенично-ржаных замещенных линий *T. aestivum* сорт Саратовская 29/*S. cereale* сорт Онохойская: 1R(1A), 1Rv(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5A), 5R(5D), 5Rviet(5A), 6R(6A)₁ (ИЦиГ СО РАН); Vrn6^{Sc}, Vrn7^{Sc}, 7829 (Селекционно-генетический институт, Украина); 5R(5A)сиб (НИИСХ Юго-Востока), а также у образцов ячменно-пшеничного амфилоида tritordeum (× *Tritordeum* Ascherson et Graebner). Присутствие чужеродного генетического материала (ржаного и ячменного) обнаружено по всем изученным маркерам, кроме алкогольдегидрогеназы и неспецифической ароматической алкогольдегидрогеназы. Выявлены различия между линиями с однотипными замещениями по хромосоме ржи 5R. Предполагается, что эти различия могут быть связаны с полиморфизмом исходных образцов ржи, использованных при гибридизации.

Ключевые слова: пшеница, рожь, ячмень, замещенные линии, ферментный полиморфизм.

Метод хромосомных замещений и дополнений в трибе Triticeae Dum. (различных видов пшениц, эгилопсов, ржи, ячменя, пырея) используется в фундаментальных и прикладных исследованиях в течение многих десятилетий. На сегодняшний день созданы серия пшенично-ржаных дополненных линий Chinese Spring/Imperial (Driscoll, Sears, 1971), полный набор линий пшеницы с замещением хромосом D-генома хромосомами ржи (Friebe, Larter, 1988), серия пшенично-ржаных замещенных линий Саратовская 29/Онохойская, Вятка, Вьетнамская (Shchapova, Kravtsova, 1982; Силкова и др., 2006, 2007). Данный материал, позволяющий проводить исследования по влиянию ржаного хроматина на различные характеристики пшеницы, широко используется многими исследователями в разных странах. Хромосомная паспортизация линий позволяет использовать их в генетических исследованиях и селекционных программах, осуществлять запланированную интрогрессию в ге-

ном пшеницы конкретных хромосом и сегментов хромосом ржи, на которых предварительно были локализованы необходимые для переноса гены (De Bustos *et al.*, 2001; Dundas *et al.*, 2001).

Фрагменты хромосом ржи присутствуют в ряде коммерческих сортов пшеницы как отечественных, так и зарубежных (Гончаров, Коновалов, 1996; Гончаров, 2002; Goncharov *et al.*, 1998).

Идентификация хромосом у линий пшеницы с пшенично-ржаными замещениями была проведена комплексом молекулярно-цитологических методов: GISH, С-бэндинг и SSR-анализ (Силкова и др., 2006, 2007). Анализ гибридного материала с помощью ферментов может дать дополнительную информацию о конкретных функциональных генах. С этой целью для более полной характеристики замещенных линий, а также образцов ячменно-пшеничного амфилоида tritordeum был проведен анализ полиморфизма по ряду ферментов.

Материалы и методы

В качестве экспериментального материала были использованы пшенично-ржаные замещенные линии:

а) полученные в ИЦиГ СО РАН – 1R(1A), 1Rv(1A), 1R(1D), 2R(2D)₁, 2R(2D)₃, 3R(3B), 5R(5A), 5R(5D), 5Rviet(5A), 6R(6A)₁ (Силкова и др., 2006, 2007); исходные формы: яровая мягкая пшеница Саратовская 29, яровая диплоидная рожь Онохойская;

б) полученные в Селекционно-генетическом институте (Одесса, Украина) и любезно предоставленные д-ром А.Ф. Стельмахом: линии *Vrn6^{Sc}* (поколение I₁₃BC₂, интрогрессирован ген *Vrn6*), *Vrn7^{Sc}* (поколение I₁₃BC₃, интрогрессирован ген *Vrn7*), 7829 (замещение 5R/5A) (Stelmakh, Avsenin, 1996); исходные формы: пять сортов озимой мягкой пшеницы и яровая диплоидная рожь Ленинградская яровая. Какие генотипы пшеницы у этих конкретных образцов – неизвестно. Доминантные гены *Vrn6^{Sc}* и *Vrn7^{Sc}* неаллельны (Goncharov, 2003);

в) полученная в НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов) – 5R(5A)сиб, исходные формы: яровая мягкая пшеница Л503, озимая диплоидная рожь Саратовская 5 (Сибикеев и др., 2005).

Для сравнения были взяты образцы ячменно-пшеничного амфиплоида tritordeum (\times *Tritordeum* Ascherson et Graebner), полученные от д-ра Martin (Испания). Эти образцы представляют собой гибридные злаки: гексаплоид 6x и октоплоид 8x, полученные скрещиванием соответственно твердой и мягкой пшеницы с южноамериканским диким ячменем *Hordeum chilense* Roem. et Schulz. и последующим удвоением хромосом у гибридов F₁ (Alvarez et al., 1992). В данной работе использованы два гексаплоидных образца с геномной формулой N^{Ch}N^{Ch}BBAА и один октоплоидный образец с геномной формулой N^{Ch}N^{Ch}BBAADD.

Ферменты анализировали общепринятыми методами (Генетика изоферментов, 1977). Был проведен анализ ферментов: 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6PGD, Е.С. 1.1.1.44), шикиматдегидрогеназы (SKDH, Е.С. 1.1.1.25), алкогольдегидрогеназы (ADH, Е.С. 1.1.1.1), ароматической алкогольдегидрогеназы, или дегидрогеназы коричневого спирта (AADH, Е.С. 1.1.1.90; Е.С. 1.1.1.91), изоцитратдегидрогеназы

(IDG, Е.С. 1.1.1.42), малик-фермента (ME, Е.С. 1.1.1.40), глутаматдегидрогеназы (GDH, Е.С. 1.4.1.2), глюкозофосфатизомеразы (GPI, Е.С. 5.3.1.9) (Классификация ..., 1962).

Результаты и обсуждение

6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, Е.С. 1.1.1.44) у злаков характеризуется двумя зонами: быстрой 6-PGD1 и медленной 6-PGD2. Согласно полученным результатам по обеим зонам наблюдается полиморфизм: 6-PGD ржи (№ 11, 12) отличается от 6-PGD пшеницы (№ 9, 10) (рис. 1, а).

Анализ замещенных линий выявил дополнительную зону в быстрой зоне при замещении 6R-6A (рис. 1, а, № 19, 20). Но дополнительный «ржаной» изофермент не соответствует по подвижности быстрой зоне 6-PGD ржи сорта Онохойская (рис. 2). Возможно, это связано с внутривидовым полиморфизмом 6-PGD у ржи, однако пока такой изофермент у ржи не обнаружен, вопрос остается открытым.

По медленной зоне 6-PGD обнаружены небольшие различия у линий с замещениями по

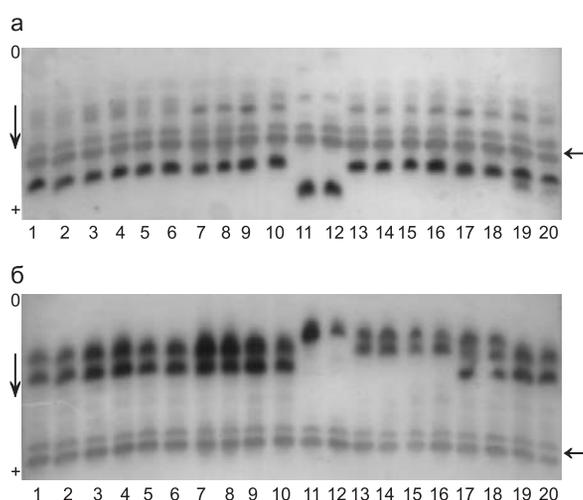


Рис. 1. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) (а) и шикиматдегидрогеназы (SKDH) (б) у ржи, мягкой пшеницы и пшенично-ржаных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 1Rv(1A); 5, 6 – 1R(1D); 7, 8 – 2R(2D)₃; 9, 10 – Саратовская 29; 11, 12 – Онохойская; 13, 14 – 5R(5A); 15, 16 – 5Rviet (5A); 17, 18 – 5R(5D); 19, 20 – 6R(6A)₁.

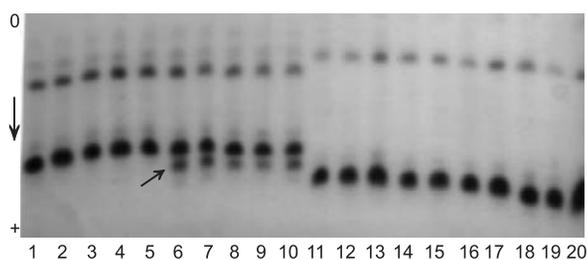


Рис. 2. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) у ржи, пшеницы, и линии с замещением 6R(6A).

1–5 – Саратовская 29; 6–10 – 6R (6A)₁; 11–20 – Онохойская.

1-й хромосоме (рис. 1, а), хотя они не слишком четкие и сделать однозначный вывод нельзя.

По этому же медленному компоненту 6-PGD2 различаются диплоидные виды *T. monocosmum* L. (образец К-20970) и выделенная из этого образца *T. sinskajae* A. Filat. et Kurk. (рис. 3). Данный компонент локализован не в 5-й группе, поскольку в ржаных замещениях по 5-й группе ржаной компонент отсутствует. Этот результат не совпадает с утверждением, что различия между *T. monocosmum* и *T. sinskajae* связаны исключительно с 5-й хромосомой этих диплоидных видов (Kuspira *et al.*, 1989; Taenzler *et al.*, 2002).

Шикиматдегидрогеназа (SKDH, E.C. 1.1.1.25) четко локализуется в 5-й гомеологической группе (рис. 1, б), что совпадает с литературными данными (Schlegel, Melz1, 1993).

На зимограммах (рис. 1, а, б) кроме обозначенных ферментов появляется еще сдвоенная зона неспецифической окраски. На рис. 1, а

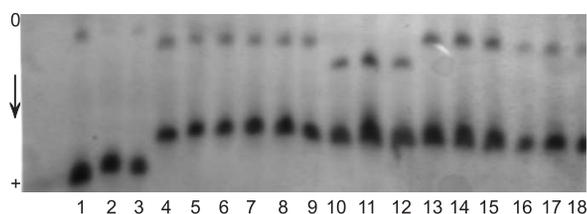


Рис. 3. Зимограмма 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PGD) у ржано-пшеничных замещенных линий и однозернянок.

1–3 – Онохойская; 4–6 – 3R(3B); 7–9 – 5R(5A)сиб; 10–12 – *T. monocosmum* L. К-20970; 13–15 – *T. sinskaja* L.; 16–18 – 2R(2D)₁.

эта зона расположена между зонами 6-PGD1 и 6-PGD2, а на рис. 1, б – в более быстрой области, чем SKDH. Появление таких зон отмечали многие исследователи (Jaaska, 1978, 1980). Полагают, что это какая-то неспецифическая дегидрогеназа, которая способна превращать тетразолий в формазан в присутствии любого субстрата или вовсе без субстрата; или это дегидрогеназа, способная использовать в качестве субстрата компоненты буфера (возможно, ТРИС). По этой сдвоенной зоне никаких различий в исследуемом материале не обнаружено.

В 5-й группе довольно четко локализируются быстромигрирующие изоферменты ароматической алкогольдегидрогеназы (НАДФ-зависимая AADH) (рис. 4, б). Таким образом, в 5-й группе есть два довольно надежных маркера, *Skdh-1* и *Aadh-1*. По литературным данным, *Skdh-1* располагается в коротком плече, *Aadh-1* – в длинном (Schlegel, Melz1, 1993).

По обычной (алифатической) алкогольдегидрогеназе (ADH, E.C. 1.1.1.1) (рис. 4, а) есть четкие отличия ржи от пшеницы, но ржаной компонент на зимограмме не выявляется. Видимо, это вызвано тем, что линий с замещениями по 4-й группе нет, а по литературным данным

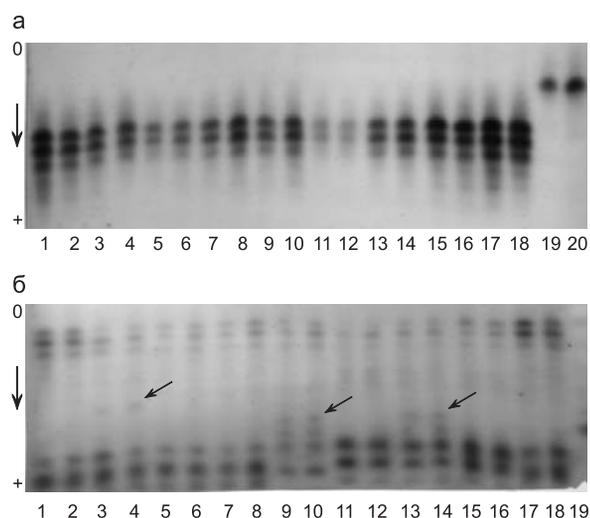


Рис. 4. Зимограмма алкогольдегидрогеназы (ADH) (а) и ароматической алкогольдегидрогеназы (AADH) (б) у ржи, пшеницы, и ржано-пшеничных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 2R(2D)₃; 5, 6 – 3R(3B); 7, 8 – Саратовская 29; 9, 10 – 5R(5D); 11, 12 – 5Rviet (5A); 13, 14 – 5R(5A); 15, 16 – 5R(5A)сиб; 17, 18 – 6R(6A); 19, 20 – Онохойская (на (б) последняя дорожка не уместилась).

ген *Adh-1* локализован на хромосомах 4-й гомеологической группы (Schlegel, Melz1, 1993).

Обнаружены различия по ароматической алкогольдегидрогеназе между замещенными линиями (рис. 4, б): из четырех линий с замещениями по 5-й группе две имеют «ржаной» фрагмент, а две – нет.

Вторая, более медленная, зона ароматической АДГ (неспецифическая ароматическая алкогольдегидрогеназа, проявляющая активность как с НАД, так и с НАДФ), должна локализоваться в 6-й группе (Schlegel, Melz1, 1993), однако достоверных результатов не получено, так как рожь не отличается четко от пшеницы (возможно, это связано со слабой экспрессией этой зоны) (рис. 4, б).

Несколько линий мягкой пшеницы с ржаными замещениями – *Vrn6^{Sc}*, *Vrn7^{Sc}*, 7829, полученных в Селекционно-генетическом институте А.Ф. Стельмахом (Stelmakh, Avsenin, 1996), показывают результаты, несколько отличающиеся от линий, полученных в ИЦиГ СО РАН (Силкова и др., 2006, 2007). Ржаной фрагмент по быстрой ААДН отсутствует у линий *Vrn6^{Sc}*; *Vrn7^{Sc}*; 7829 (рис. 5, а, № 14–20). При этом у SKDN ржаной фрагмент присутствует. У двух

линий (*Vrn6^{Sc}* и *Vrn7^{Sc}*) отсутствует быстрый вариант пшеницы, так же, как у линий с замещениями 5R(5A) (рис. 5, б, № 14–17 и 4–9).

Образцы гибридного злака × *Tritordeum*, представляющие собой амфиплоиды пшеницы и ячменя, отличаются по ряду ферментов, несут характерные для исходных видов компоненты спектров (рис. 6, а, б; 7, а, б); следовательно, ячменные замещения могут быть обнаружены у пшеницы с фрагментами ячменных хромосом.

При окраске на активность глюкозофосфатизомеразы почти всегда в нижней части зимограммы проявляются изоферменты 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (рис. 9, б). Это явление, которое отмечают многие исследователи на разных объектах, обусловлено, по всей видимости, примесью 6-фосфоглюконовой кислоты во фруктозо-6-фосфате, который используется в качестве субстрата при окраске на активность GPI (Генетика изоферментов, 1977).

По трем ферментам (изоцитратдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа и малик-фермент, а также глюкозофосфатизомеразы) обнаружены отличия спектров ржи от спектров мягкой пшеницы (рис. 8, а, б; 9, а, б). Эти отличия можно использовать для исследований по локализации

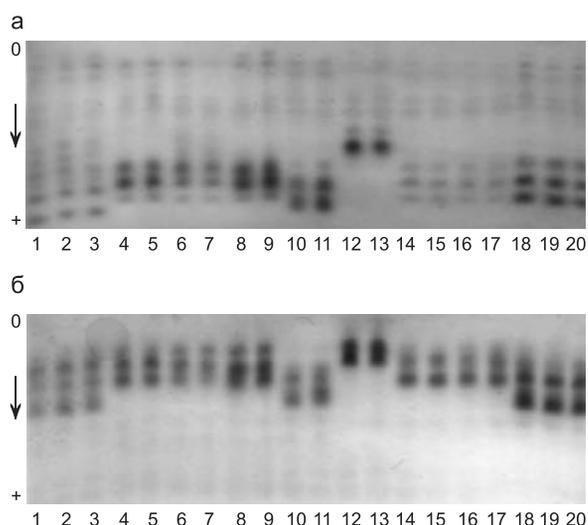


Рис. 5. Зимограмма ароматической алкогольдегидрогеназы (ААДН) (а) и шикиматдегидрогеназы (SKDN) (б) у пшенично-ржаных замещенных линий на основе разных сортов мягкой пшеницы.

1–3 – 5R(5D); 4, 5 – 5Rviet (5A); 6, 7 – 5R(5A); 8, 9 – 5R(5A)сиб; 10, 11 – Саратовская 29; 12, 13 – Онохойская; 14, 15 – *Vrn6^{Sc}*; 16, 17 – *Vrn7^{Sc}*; 18–20 – линия 7829.

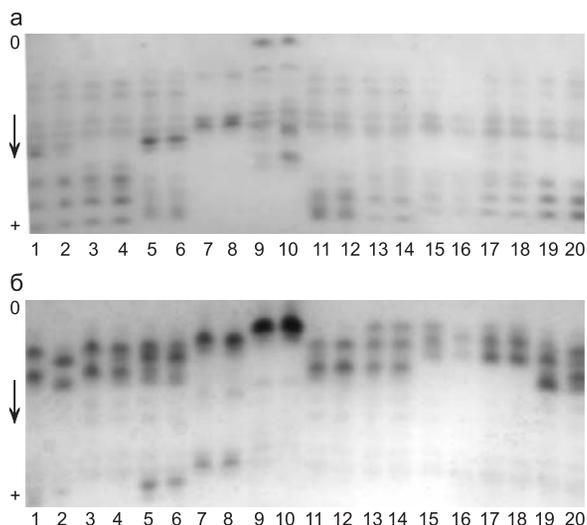


Рис. 6. Зимограмма ароматической алкогольдегидрогеназы (ААДН) (а) и шикиматдегидрогеназы (б) у пшенично-ржаных замещенных линий и разногенетических образцов × *Tritordeum*.

1, 2 – × *Tritordeum* 6x; 3, 4 – × *Tritordeum* 6x; 5, 6 – × *Tritordeum* 8x; 7, 8 – *Hordeum vulgare* L.; 9, 10 – Онохойская; 11, 12 – Саратовская 29; 13, 14 – 5R(5D); 15, 16 – 5Rviet (5A); 17, 18 – *Vrn7^{Sc}*; 19, 20 – линия 7829.

соответствующих генов (кроме GPI, которая локализована в хромосомах 1-й гомеологической группы). Для этого необходимы наборы замещений по всем хромосомам.

Таким образом, по большинству ферментов обнаружены различия ржаных, пшеничных и

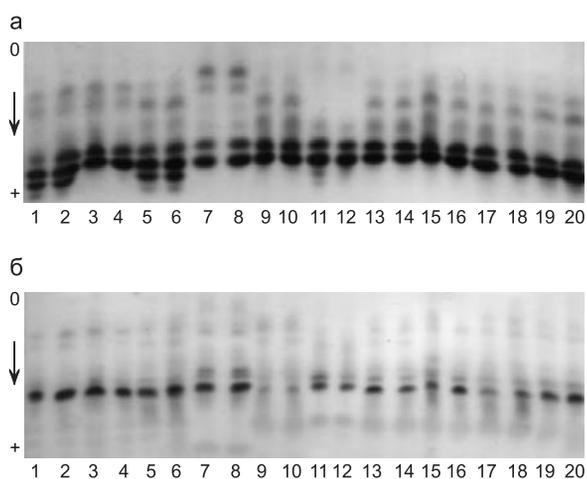


Рис. 7. Зимограмма изоцитратдегидрогеназы (IDH) (а) и малик-фермента (МЕ) (б) у ржи, пшеницы, ячменя, пшенично-ржаных замещенных линий и образцов *×Tritordeum*.

1, 2 – *×Tritordeum* 6x; 3, 4 – *×Tritordeum* 6x; 5, 6 – *×Tritordeum* 8x; 7, 8 – *Hordeum vulgare* L.; 9, 10 – Саратовская 29; 11, 12 – Онохойская; 13, 14 – 5R(5D); 15, 16 – 5Rviet(5A); 17, 18 – Vm7^{Sc}; 19, 20 – 7829.

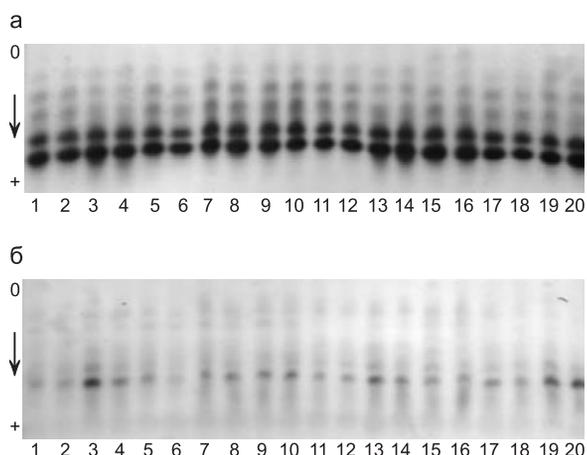


Рис. 8. Зимограмма изоцитратдегидрогеназы (IDH) (а) и малик-фермента (б) у пшенично-ржаных замещенных линий.

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 2R(2D); 5, 6 – 1R(1D); 7, 8 – 1Rv(1A); 9, 10 – 6R(6A)₁; 11, 12 – 5R(5A); 13, 14 – 2R(2D)₁; 15, 16 – 3R(3B); 17, 18 – 5R(5A)сиб; 19, 20 – Vm7^{Sc}.

ячменных вариантов исследованных ферментных белков. Заметных различий не обнаружено по алифатической алкогольдегидрогеназе и неспецифической ароматической алкогольдегидрогеназе.

Наиболее интересным результатом проведенных исследований является обнаружение полиморфизма между однотипными замещенными линиями. Так, например, наблюдаются различия между линиями с замещением по 5-й хромосоме по спектрам шикиматдегидрогеназы и ароматической алкогольдегидрогеназы. Возможно, эти различия отражают полиморфизм исходных форм ржи и пшеницы. Однако не исключена и другая возможность: одни и те же генетические элементы по-разному экспрессируются в различном генотипическом окружении.

При создании и поддержании генетических коллекций необходимо проводить типификацию и паспортизацию образцов, контролировать сохранение генетической конституции (или отслеживать изменения, если таковые будут

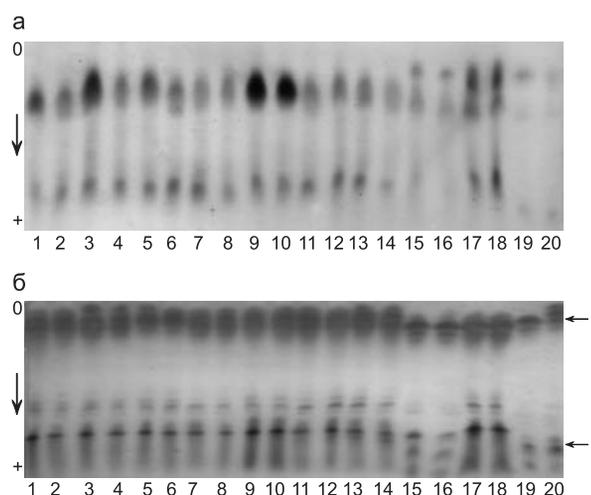


Рис. 9. Зимограмма глутаматдегидрогеназы (GDH) (а) и глюкозофосфатизомеразы (б) у пшенично-ржаных замещенных линий, ржи, пшеницы-однозернянки и пшеницы Синской (на (б) – зона в верхней части зимограммы; в нижней части зимограммы проявляются изоферменты 6-фосфоглюконатдегидрогеназы).

1, 2 – 1R(1A); 3, 4 – 1R(1D); 5, 6 – 1Rv(1A); 7, 8 – 2R(2D)₃; 9, 10 – 3R(3B); 11, 12 – 5R(5D); 13, 14 – 6R(6A)₁; 15, 16 – *T. monococtum* K-2097; 17, 18 – *T. sinskajae*; 19, 20 – *S. cereale* (Онохойская).

происходить в процессе репродукции). Такую работу необходимо проводить на всех уровнях структурно-функциональной организации организмов: молекулярном, биохимическом, цитологическом, онтогенетическом, репродуктивном и популяционном.

Ферментные маркеры отличаются тем, что несут конкретную функциональную нагрузку, которая, как правило, хорошо известна (особенно для генов «домашнего хозяйства»). В этом качестве зимограммы образцов могут быть использованы не только как формально-генетические маркеры, но и для построения генетических моделей тех или иных признаков.

Литература

- Генетика изоферментов / Под ред. Д.К. Беляева. Новосибирск: Наука, 1977. 275 с.
- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2002. 252 с.
- Гончаров Н.П., Коновалов А.А. Наследование глюкозофосфатизомеразы, остистости, опушения колоса и типа развития у *Aegilops speltoides* и *Ae. aucheri* // Генетика. 1996. Т. 32. № 5. С. 656–662.
- Классификация и номенклатура ферментов. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 200 с.
- Сибикеев С.Н., Сибикеева Ю.Е., Крупнов В.А. Передача хромосомы 5R через гаметы и ее влияние на эмбриогенез у яровой мягкой пшеницы // Генетика. 2005. Т. 41. № 12. С. 1650–1655.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Создание пшенично-ржаных замещенных линий с идентификацией хромосомного состава кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 793–802.
- Силкова О.Г., Добровольская О.Б., Дубовец Н.И. и др. Получение пшенично-ржаных замещенных линий на основе озимых сортов ржи с идентификацией кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2007. Т. 43. № 8. С. 1149–1152.
- Alvarez J.B., Ballesteros J., Sillero J.A., Martin L.M. Tritordeum: a new crop of potential importance in the flood industry // Hereditas. 1992. V. 116. № 3. P. 193–197.
- De Bustos A., Rubio P., Jouve N. Characterisation of two gene subunits on the 1R chromosome of rye as orthologs of each of the Glu-1 genes of hexaploid wheat // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 103. P. 733–742.
- Driscoll C.S., Sears E.R. Individual addition of the chromosomes of Imperial rye to wheat // Agron. Abstr. 1971.
- Dundas, I.S., Frappell D.E., Crack D.M., Fisher J.M. Deletion mapping of a nematode resistance gene on rye chromosome 6R in wheat // Crop Sci. 2001. V. 41. P. 1771–1778.
- Friebe B., Larter E.N. Identification of a complete set of isogenic wheat/rye D-genome substitution lines by means of Giemsa C-banding // Theor. Appl. Genet. 1988. V. 76. P. 473–479.
- Goncharov N.P. Genetics of growth habit (spring vs. winter) in common wheat: confirmation of the existence of dominant gene *Vrn4* // Theor. Appl. Genet. 2003. V. 107. P. 768–772.
- Goncharov N.P., Konovalov A.A., Chikida N.N. Genetic variation at the *Gpi-1* loci among *Aegilops* and *Triticum* genera and phylogeny of polyploid wheats // Журн. общ. биологии. 1998. Т. 59. № 3. С. 318–324.
- Jaaska, V. NADP-dependent aromatic alcohol dehydrogenase in polyploid wheats and their relatives: on the origin and phylogeny of polyploid wheats // Theor. Appl. Genet. 1978. V. 53. P. 209–217.
- Jaaska V. Electrophoretic survey of seedling esterases in wheats in relation to their phylogeny // Theor. Appl. Genet. 1980. V. 56. P. 273–284.
- Kuspira J., Maclagan J., Bhambhani R. N. *et al.* Genetic and cytogenetic analyses of the A genome of *Triticum monococcum* L. V. Inheritance and linkage relationships of genes determining the expression of 12 quantitative characters // Genome. 1989. V. 32. № 5. P. 869–881.
- Schlegel R., Melz G. Genetic linkage map of rye (*Secale cereale*). Genetic maps. 6th Cold Spring Harbor Lab. Press. 1993. P. 6.235–6.255.
- Shchapova A.I., Kravtsova L.A. The production of wheat-rye substitution lines by using the Giemsa staining technique // Cereal Res. Commun. 1982. V. 1/2. P. 33–39.
- Stelmakh A.F., Avsenin V.I. Alien introgression of spring habit dominant genes into bread wheat // Euphytica. 1996. V. 89. P. 65–68.
- Taenzler B., Esposti R.F., Vaccino P. *et al.* Molecular linkage map of einkorn wheat: mapping of storage-protein and soft glume genes and bread-making quality QTLs // Genet. Res. (Camb.). 2002. V. 80. P. 131–143.

**ENZYME POLYMORPHISM IN GENETIC COLLECTIONS
OF THE RYE–WHEAT SUBSTITUTION LINES AND THE ACCESSIONS
OF *×TRITORDEUM* WITH DIFFERENT GENOME RATIOS**

A.A. Konovalov, O.G. Silkova, A.I. Shchapova, E.A. Moiseeva, E.Ya. Kondratenko

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: konov@bionet.nsc.ru

Summary

The isozyme pattern of 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD, EC 1.1.1.44), shikimate dehydrogenase (SKDH, EC 1.1.1.25), alcohol dehydrogenase (ADH, EC 1.1.1.1), aromatic alcohol dehydrogenase or cinnamyl alcohol dehydrogenase (AADH, EC 1.1.1.90 and EC 1.1.1.91), isocitrate dehydrogenase (IDG, EC 1.1.1.42), malik-enzyme (ME, E.C. 1.1.1.40), glutamate dehydrogenase (GDH, EC 1.4.1.2), glucose-6-phosphate isomerase (GPI, EC 5.3.1.9) were studied in the rye – wheat substitution lines *T. aestivum* cv. Saratovskaya 29/*S. cereale* cv. Onokhoyskaya: 1R (1A), 1Rv (1A), 1R (1D), 2R (2D)₁, 2R (2D)₃, 3R (3B), 5R (5A), 5R (5D), 5Rviet (5A), 6R (6A)₁ (Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science); Vrn6^{Sc}, Vrn7^{Sc}, 7829 (Breeding and Genetics Institute, The Ukraine); 5R(5A)sib (Agricultural Institute of The South-East, Saratov), and in the accessions of *×Tritordeum* with different genome ratios. The presence of alien genetic material (rye and barley) is revealed with all studied markers except alcohol dehydrogenase and nonspecific aromatic alcohol dehydrogenase. Distinction between the lines with the same replacements on rye chromosome 5R has been drawn. As the donors of chromosome 5R are different, this distinction may be due to polymorphism of the initial samples used in hybridization.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОРТОВ ЛЬНА ТОМСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Г.А. Мичкина¹, Г.А. Попова¹, Ю.В. Чудинова², Н.А. Архипов²

¹ ГНУ Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа СО Россельхозакадемии, Томск, Россия;

² Томский государственный университет, Томск, Россия, e-mail: thefinder@mail.ru

Рассматривается уникальная коллекция сортов льна томской селекции, отличающихся раннеспелостью, высоким содержанием и качеством волокна, устойчивостью к полеганию и болезням. На основе уникального сортотипа льна томской селекции выведено более 40 сортов льна-долгунца. Приводится описание последних районированных сортов местной селекции.

Ключевые слова: лен, биоразнообразие, селекция.

...лен – культура трудная не только при возделывании, еще трудней в селекции. Не многие встают на эту тропу познания и созидания, но тот, кто начал свой путь в селекции, ушел туда безвозвратно.

А.П. Крепков

Селекционная работа по льну-долгунцу на Томской государственной сельскохозяйственной опытной станции имеет многолетние традиции и преемственность. Она здесь началась в 1937 г., когда Западно-Сибирская краевая опытная станция зернового хозяйства была реорганизована в Томскую зональную льняную опытную станцию Всесоюзного института льна. Зонной ее деятельности была определена вся территория Западной Сибири. В Сибири лен высевали на площади более чем 100 тыс. га, создавалась база переработки. Экономика многих, особенно северных, колхозов и совхозов в первую очередь определялась развитием льноводства. В годы Великой Отечественной войны в Сибирь были эвакуированы научные коллективы селекционеров института льна из Торжка и Пскова. В это время на станции осваивались новые методы оценки селекционного материала, и к концу войны первые томские сорта льна были переданы в государственное сортоиспытание. К середине 1950-х гг. были выведены сорта льна Томский 5 и Томский 7, районированные в Ивановской и Калининской областях. Наибольшее распространение полу-

чили сорта Томский 9 и Томский 10, уникальные по процентному содержанию волокна в стеблях (до 36 %). Они были широко востребованы и занимали до 22 % от всех посевов льна в бывшем СССР. Продолжительное время сорт Томский 10 возделывался так же в Болгарии и Румынии. Льны томской селекции являлись гордостью отечественной селекции, представляя Россию на выставках в Токио в 1973 г., в Венгрии и Чехословакии в 1975 г.

Ведущим направлением в селекции льна-долгунца в Томске было и остается создание раннеспелых сортов, высокоурожайных по волокну и семенам, с хорошим качеством волокна, устойчивых к полеганию и болезням (Крепков, 2000). Отличительной особенностью гибридного материала томской селекции является высокое содержание волокна в стеблях. Этот хозяйственно ценный признак стал уникальным достижением томских селекционеров в 1950-х гг. прошлого столетия и используется в селекционных программах в настоящее время. Для улучшения качества волокна исходным материалом служат образцы льна других опытных учреждений. В последние годы получены

новые гибридные линии и сорта с высоким качеством волокна. Для оценки на устойчивость к болезням гибридный материал испытывается на провокационно-инфекционных фонах, которые позволяют отобрать устойчивые к болезням формы (Крепков, 2004).

В конце 1970-х гг. были переданы в Государственное сортоиспытание сорта Томский 12, Томский 13, Томский 15, последний получил широкое распространение на Украине, где районирован с 1985 г. В 1986 г. передан в ГСИ сорт Томский 16, который районирован в Белоруссии и по Западно-Сибирскому региону как ультраскороспелый сорт. В системе Госсортоиспытания России Томский 16 признан эталонным сортом на раннеспелость. Было получено первое авторское свидетельство. В это время были заложены опыты по агротехнике возделывания новых сортов: изучены вопросы обработки почвы, новые гербициды, удобрения, нормы и сроки посева. Было организовано малое предприятие «Томский лен», на примере которого отрабатывались экономические возможности в льноводстве. Переданы в ГСИ в 1990 г. сорт Томский 17, в 1991 г. – Томский 18. В 1995 г. эти сорта районированы по Центральному, Волго-Вятскому, Северо-Западному, Западно-Сибирскому, Восточно-Сибирскому регионам. Также переданы в государственное сортоиспытание сорта: 1995 г. – ТОСТ, 1997 г. – ТОСТ 2, 1998 г. – ТОСТ 3, 2000 г. – ТОСТ 4, 2001 г. – ТОСТ 5. Научно-практическая работа была подкреплена большой теоретической деятельностью (Крепков, 200, 2001, 2004). Сохранив приоритетную базу местных селекционных сортов льна, менее чем за 35 лет – группа селекционеров под руководством А.П. Крепкова дополняет сибирский лен 7 новыми сортами, отличающимися высоким содержанием волокна, раннеспелостью, устойчивостью к полеганию и болезням, высоким качеством волокна. Создан специфический сибирский сортотип культурного льна. Томские сорта льна способны давать за короткий вегетационный период в 65–75 дней до 12–14 ц/га волокна, до 10 ц/га семян, при этом сохраняя устойчивость к полеганию и болезням. Передан в Государственное сортоиспытание сорт льна «Памяти Крепкова».

Сорт ТОСТ (аббревиатура Томская станция) выведен на Томской ГСХОС методом гибриди-

зации с последующим индивидуальным отбором из комбинации скрещивания Белорусский ранний × Т-10. Районирован с 2000 г. по Западно-Сибирскому региону. Сорт раннеспелый, выровненный по высоте. Содержание волокна в стеблях растений 34–36 %. Качество волокна относится ко второй группе. Сорт устойчивый к полеганию и болезням. Урожай волокна 12,3 ц/га, средний номер волокна 18,8 при разрывной нагрузке 17,4 кгс, гибкости 63 мм. Авторы сорта: А.П. Крепков, Г.А. Мичкина, Н.Б. Рогальская.

Сорт ТОСТ 3 создан в результате насыщающих скрещиваний (Томский-15 × Полк) × Томский-15, элитное растение–линия отобрана в 1986 г. из гибридной популяции под селекционным номером Г-2845. Отличительной особенностью сорта является высокое качество волокна. Сорт относится к раннеспелой группе, высокопродуктивный, урожайность соломки 70,4 ц/га превышает стандарт на 44,5 %, урожайность семян 10,3 ц/га, или на 26,3 % выше стандарта, устойчивый к болезням и полеганию. Содержание длинного волокна превышает стандарт на 25 %, а средний номер волокна равен 17,5, или на 3,9 выше стандарта. Впервые сорт льна-долгунца получен с использованием в качестве одной из родительских форм межеумка американской селекции. ТОСТ 3 включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию с 2003 г. по Волго-Вятскому и Западно-Сибирскому регионам. Авторы сорта: А.П. Крепков, Г.А. Мичкина, Н.Б. Рогальская.

Сорт ТОСТ 4 получен методом ступенчатого скрещивания с последующим индивидуальным отбором из потомства сложного скрещивания ((Томский 10 × 8063) × Томский 13) × Оршанский 2 под селекционным номером Г-28483. Сорт раннеспелый, длина вегетационного периода 78 дней. Средний номер длинного волокна 14,3. Устойчив к осыпанию, высокоустойчив к ржавчине. Выровненный по созреванию. Рекомендуются по Западно-Сибирскому, Волго-Вятскому регионам возделывания льна. Проходил испытание в 16 областях России на 40 сортоучастках. С 2007 г. включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию по Западно-Сибирскому региону. Авторы сорта: А.П. Крепков, Г.А. Мичкина, Н.Б. Рогальская.

Сорт ТОСТ 5 выведен методом индивидуального отбора из потомства сложного насыщаемого скрещивания (Томский 10 × К-6609) × (Г-14904 × Томский 15) × (Лазурный × Томский 15) × Г-13922 × Г-1576 под селекционным номером Г-36411. Сорт относится к группе раннеспелых льнов, вегетационный период составляет 77–85 дней. Высокий урожай соломки и семян (48,3 ц/га – 8,0 ц/га) сорт унаследовал от сортов и гибридов томской селекции. Высокую устойчивость к грибным болезням (относится к 1-й группе устойчивости) данный сорт унаследовал от австралийского сорта Форрест и сорта Лазурный селекции ВНИИ льна. В течение 4-летнего станционного сортоиспытания сорт ТОСТ 5 превышает сорт-стандарт Томский-16 по урожаю соломки на 7,9 ц/га, по урожаю семян – на 1,2 ц/га. Содержание волокна в стеблях 31,6% выше, чем у стандарта на 1,6%. Сорт хорошо выровненный по стеблестою и созреванию. Включен в Госреестр по Северо-Западному (2), Волго-Вятскому (4), Западно-Сибирскому (10) регионам. Авторы сорта: А.П. Крепков, Г.А. Мичкина, Н.Б. Рогальская.

Сорта томской селекции представляют большую ценность для ведения интенсивного льно-

водства и используются в качестве исходного материала при селекции в других селекционных учреждениях России. Оценка и отбор осуществляются в системе питомников: коллекционный питомник, питомник гибридизации, питомник отбора (первый год), питомник закладки линий (второй год), селекционный питомник (третий год), контрольный питомник (четвертый год), питомник селекционного сортоиспытания (пятый год), инфекционно-провокационный питомник. В настоящее время ведется первичное семеноводство 7 сортов, разрабатываются технологии возделывания новых сортов льна. Для их внедрения в производство продолжается работа с ООО «Томский лен». На базе проблемной лаборатории льна планируется создание научно-образовательного центра. Коллектив продолжает исследования, сохраняя в чистоте бесценный гибридный материал льна-долгунца.

Литература

- Крепков А.П. Селекция льна-долгунца в Сибири. Томск: Изд-во Томского ун-та, 2000. 186 с.
Крепков А.П. Лен-долгунец в Сибири. Томск: Изд-во Томского ун-та, 2004. 168 с.

THE GENE POOL OF FLAX CULTIVARS OF TOMSK SELECTION

G.A. Michkina¹, G.A. Popova¹, J.V. Chudinova², N.A. Arhipov²

¹ Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, 634050, Tomsk, Russia;

² Tomsk State University, 634050, Tomsk, Russia. e-mail: thefinder@mail.ru

Summary

The unique collection of flax cultivars of Tomsk selection, remarkable for their earliness, high content and quality of fibre, resistance to lodging and illnesses is considered. More than 40 cultivars of flax have been developed on the basis of the unique varietal type of flax of Tomsk selection. The last zoned cultivars of local selection are described.

ГЕНОФОНД ПЫРЕЯ СИЗОГО КАК ИСТОЧНИК РАСШИРЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ПШЕНИЦЫ

Е.П. Размахнин

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: eprazmakh@yandex.ru

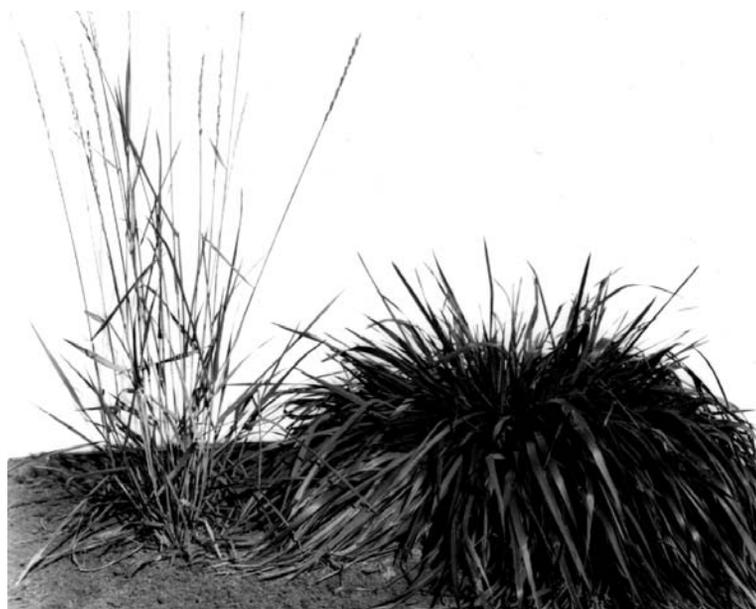
Сделан обзор литературы по пырею сизому – многолетнему злаку, имеющему важное значение для улучшения пшеницы и увеличения ее биоразнообразия. Приведены результаты многолетней работы по созданию инбредных и андрогенных линий пырея сизого и их изучению. Приводится информация о создании генетической коллекции растений пырея сизого с ценными для генетики и селекции пшеницы признаками.

Ключевые слова: генофонд, пырей сизый, интрогрессия, мягкая пшеница.

Пырей сизый *Agropyron glaucum* (рис. 1) впервые был описан в 1805 г. как *Triticum intermedium* Host, затем, в 1812 г., – как *Agropyron intermedium* и в 1817 г. – как *A. glaucum* (Desf. ex DC) Roem. et Schult (Цвелев, 1973). Наиболее часто в России и за рубежом используется обозначение *A. glaucum* (syn. *A. intermedium*).

Исследования Н.В. Цицина (1978), проведенные на большой коллекции пырея, собранной в европейской части России, выявили огромный полиморфизм у всех видов, в том числе и у пырея сизого. Автором установлено, что

большинство форм этого вида – рыхлокустовые без корневищ, но были найдены и корневищные формы; высота растений колеблется от 100 до 150 см, длина колоса от 8 до 24 см. Колосья различаются по величине, плотности, ломкости, окраске. Цвет растений колеблется от интенсивно голубовато-зеленого (сизого) до темно-зеленого. Некоторые формы имеют прочные твердые стебли при достаточно большом числе широких листьев, другие имеют тонкие стебли и узкие листья. Одни растения формируют плотный прямостоячий куст, у



а

б

Рис. 1. Растения пырея сизого *A. glaucum*.

а – яровое; б – озимое.

других стебли в пределах куста находятся на некотором расстоянии друг от друга, образуя рыхлый куст. Встречаются растения с опушенными и неопушенными цветочными чешуями и изредка остистые формы.

Д. Девей (Dewey, 1978) при изучении популяции пырея сизого, собранного в Иране, отмечает аналогичную широкую вариабельность признаков. Дополнительно автор указывает на то, что по вегетативной массе некоторые растения иранской популяции были в 10 и более раз продуктивнее других.

Дифференцированное изучение растений пырея сизого, проведенное А. Рагулиным (1958), показало их биологическую неоднородность по способности к гибридизации с пшеницей. Опыление пыльцой с одного растения пырея дало в два раза больше семян, чем с другого. Зависимость результатов скрещиваний от генотипа пырея продемонстрирована И. Кикоть и Е. Волковой (1937), В. Чекуровым и А. Орловой (1982).

Различия по биологическим свойствам подтверждаются изменчивостью по другим признакам. Так, содержание белка в зерне колеблется от 7 до 25–27 %, клейковины – от 5 до 70 % и выше (Цицин, 1963). Фертильность цветков при перекрестном опылении варьирует от 0 до 100 %, при искусственном самоопылении семена у одних растений не завязываются, а у других образуются до 44 семян на колос (Dewey, 1978). П. Ковалева (1941) и позже Н. Цицин (1954) выявили различия по типу развития (яровость–озимость) и длительности жизненного цикла.

Н.И. Вавилов (1935) писал, что род *Agropyron* охватывает в своей эволюции континенты Азии, Европы и Северной Америки, и, представленный многими видами и формами, требует планомерного и всестороннего изучения. Однако уровень изученности пырея сизого и в настоящее время не сравним с изученностью других сельскохозяйственных культур, например, пшеницы, для улучшения которой он часто используется как один из родительских компонентов.

Недостаточная изученность родительских форм может привести к ошибкам, которые скажутся на всей последующей работе. Примечателен в этой связи опыт первых работ по созданию пшенично-пырейных гибридов Н. Цициным (1954). Им было обнаружено

расщепление пшенично-пырейных гибридов (ППГ) на яровые и озимые формы, которое значительно затрудняло работу. Более того, иногда делались неверные выводы о зимостойкости, так как в параллельном испытании озимые формы ППГ перезимовывали хуже, чем рожь. Впоследствии было выяснено, что это определялось не степенью устойчивости озимых форм ППГ, а наличием среди них форм с яровым циклом развития. При скрещивании яровых растений пырея с озимой пшеницей, по мнению автора, получаются не озимые формы ППГ, а яровые, которые в последующем оказываются незимостойкими.

Таким образом, судя по данным литературы, вид *A. glaucum* генетически изучен далеко не полностью, несмотря на исключительную роль этого дикорастущего злака в улучшении генотипа пшеницы и на то, что он имеет определенное значение как кормовая культура.

Значение пырея сизого в селекции пшеницы

Идея использования представителей рода *Agropyron* для улучшения генотипа культурных злаков, в частности пшеницы, принадлежит в России Н.В. Цицину, который в конце 1920-х гг. начал работы по поиску диких форм, способных к скрещиванию с такими важными сельскохозяйственными культурами, как рожь, пшеница, ячмень. В 1930 г. его работы увенчались успехом: было получено первое гибридное зерно от скрещивания сорта пшеницы Лютесценс 30 с растениями пырея сизого. В 1934 г. получены первые константные пшенично-пырейные гибриды (Цицин, 1954). Кроме *A. glaucum* были найдены еще три вида пырея – *A. elongatum*, *A. trichophorum*, *A. junceum*, – легко скрещивающиеся с пшеницей, но наиболее широкое распространение в качестве доноров полезных признаков получили *A. glaucum* ($2n = 6x = 42$) и *A. elongatum* ($2n = 10x = 70$, $2n = 2x = 14$).

Под руководством академика Н.В. Цицина в нашей стране созданы и внедрены ряд неполегающих, устойчивых к поражению болезнями, неосыпающихся сортов яровой (Цицин, 1971; Иванова, Болсунковская, 1972) и озимой (Горюнов, 1958; Цицин, 1981) пшениц с участием пырея.

О масштабах подобных работ в настоящее время можно судить по перечню стран, в которых селекционеры широко вовлекают пырей в скрещивания с пшеницей и в последующую селекционную проработку. Это Россия (Цицин, 1981), США (Scharma, Gill, 1983), Канада (Graham, Kibirige-Sebunya, 1983), Аргентина (Horovitz, 1969), Австралия (Hallowan, 1974), Египет (El-Ghavas, Khalil, 1973), Франция (Caudegon, 1979), Румыния (Diaconi, 1969), Болгария (Kunovski, Paniatov, 1971), Венгрия (Szalay, 1971), Германия (Wienhues, 1971; Hsam, Zeller, 1982), Швеция (Fatin, 1983), Индия (Malik *et al.*, 1979), Китай (Li, Sun, 1980) и др.

Ряд авторов отмечают следующие признаки пырея, которые желательны передать культурным злакам: зимостойкость (Цицин, 1954), соле- и засухоустойчивость (Dewey, 1960; Shannon *et al.*, 1985; Mc Guire, Dvorak, 1981; Николаенко, 1982); повышенное содержание белка и клейковины в зерне (Цицин, 1954; Горбань, Шулындин, 1970; Плешков и др., 1975); устойчивость к заболеваниям (Лапченко и др., 1975; Синеговец, Лапченко, 1975; Плахотник, 1981); меньшую требовательность к плодородию почв по сравнению с пшеницей; многоцветковость и многоколосковость (Цицин, 1978). Для районов достаточного увлажнения и районов орошаемого земледелия особое значение имеет создание высокопродуктивных неполегающих сортов. При разрешении этой задачи метод отдаленной гибридизации пшеницы с пыреем является одним из путей селекции.

В Индии 30 % посевов пшеницы возделываются при орошении. В связи с этим ведутся работы по выведению короткостебельных сортов, устойчивых к полеганию, способных эффективно использовать поливную воду и высокие дозы минеральных удобрений (Удачин, 1972). Однако в селекции таких сортов имеются определенные трудности. Так, у них 80 % корней расположено в поверхностном слое почвы на глубине от 0 до 20 см и только 2–3 % достигают глубины 60 см. В связи с этим поливы необходимо проводить не реже чем через каждые две недели, при этом влага и минеральные вещества глубоких слоев почвы используются неэффективно. Возникла задача углубления узла кущения с одновременным удлинением эпикотила. Предпринимались по-

пытки улучшить селекционный материал методом гибридизации пшеницы с пыреем. Малик и др. (Malik *et al.*, 1979) показали возможность отбора растений средней высоты с удлинненными эпикотилами в потомстве от скрещивания обыкновенной пшеницы с линией, несущей транслокацию от хромосом пырея.

В связи с отсутствием сортовой устойчивости к болезням у мягкой пшеницы внимание селекционеров и фитопатологов привлекла возможность передачи этой устойчивости от родов, близких к *Triticum*. Так, представители рода *Agropyron* были использованы для передачи устойчивости к болезням: бурой и желтой ржавчинам, мучнистой росе (Синеговец, Лапченко, 1975), стеблевой ржавчине (Sharma, Gill, 1983), твердой головне (Larter, Elliot, 1956), к вирусу полосатой мозаики (Raj, 1969; Lay *et al.*, 1971).

Возделываемые сорта озимой пшеницы не отвечают возрастающим требованиям, предъявляемым к ним в настоящее время сельскохозяйственным производством. В России существует проблема повышения зимостойкости и холодостойкости озимой пшеницы. Слабая зимостойкость распространенных ныне сортов нередко приводит к полной гибели посевов в отдельных районах. Считается, что в пределах рода *Triticum* нет таких видов и форм, которые обладали бы нужными генами зимостойкости.

В процессе эволюции, которая проходила в Передней Азии, пшеница не приобрела генов холодостойкости, как это имело место у ржи (Брежнев, Шмараев, 1972). Амплитуда изменчивости по зимостойкости у пшеницы очень ограничена. По мнению ряда авторов источником таких генов могут явиться дикорастущие сородичи пшеницы (Лапченко и др., 1975). Для передачи генов зимостойкости пшенице одним из лучших компонентов скрещивания является пырей сизый (Федотова и др., 1975; Федотова, Усова, 1982; Сайфулин и др., 1985; Цакашвили, Сандухадзе, 1985). Об этом свидетельствуют полученные практические результаты. Первые пшенично-пырейные гибриды озимого типа, созданные в России, получены с привлечением в гибридизацию пырея сизого. Они способствовали продвижению озимой пшеницы в более северные районы европейской части России, где ранее она не возделывалась из-за слабой зимостойкости. С внедрением в производство пер-

вых пшенично-пырейных гибридов – ППГ 566, ППГ 186, ППГ 1 – посевные площади озимого клина в Московской области в 1955 г. возросли в 4,8 раза по сравнению с 1950 г. и в 100 раз по сравнению с 1914 г. (Горюнов, 1958).

Результаты испытания ППГ озимого типа показали их перспективность в отдельных районах Сибири (Елькина, Донская, 1968; Иванов, Шепелев, 1985).

В условиях Швеции А. Фатин (Fatin, 1983) при сравнительном изучении ряда наиболее распространенных сортов озимой пшеницы и озимых ППГ обнаружил, что гибрид от скрещивания пшеницы к-46008 на *A. glaucum* превысил по урожайности сорт-стандарт *Hildur*. Растения гибрида более устойчивы к листовой ржавчине, имеют повышенное содержание белка в зерне и лучшие хлебопекарные качества по сравнению со стандартом.

Оригинальный подход к использованию пырея сизого в селекционно-генетических программах разработали Шейфер с соавт. (Schaeffer *et al.*, 1970; Schulz-Schaeffer, 1972; Yung, Schulz-Schaeffer, 1979). Они применили отдаленную гибридизацию для создания мужскостерильных линий *A. intermedium*. С этой целью ими была осуществлена программа скрещиваний *T. durum* × *A. intermedium* с последующим беккроссированием F₁ на *A. intermedium*. В результате получены аллоплазматические гибриды, имеющие хромосомный набор пырея и цитоплазму твердой пшеницы. Выделены гибридные растения со 100 %-й стерильностью пыльцы и нормальной фертильностью женских яйцеклеток. Выделение мужскостерильных линий создает базу для получения гетерозисных гибридных сортов пырея сизого для использования на корм.

Гибридизация пшеницы с видами пырея, из которых наиболее часто используется пырей сизый, позволяет решить ряд практических задач. В то же время, являясь аллогексаплоидами и размножаясь посредством перекрестного опыления, растения пырея сизого характеризуются большим внутривидовым полиморфизмом. Поэтому очень важно провести отбор среди многих генотипов по хозяйственно важным признакам с дальнейшим созданием линейного материала (линий). Как считал Н.И. Вавилов, успех в селекции растений в большой степени

зависит от наличия, качества и глубины изучения исходного материала (Вавилов, 1935).

В условиях Сибири сформировался специфический генофонд растений, отличающихся рядом ценных свойств: уникальной зимостойкостью, скороспелостью, устойчивостью к засухе в первой половине вегетации и переносимостью воздушного переувлажнения при недостатке тепла в конце вегетации, устойчивостью к поздним весенним и ранним осенним заморозкам и низким положительным температурам (холодостойкостью), быстрой восстанавливаемостью метаболических процессов после перенесенных заморозков и засухи, повышенной устойчивостью к фузариозно-гельминтоспорозным болезням (Гончаров, 1999). Формирование коллекции генофонда пырея сизого и ее планомерное и целенаправленное изучение были начаты в Институте цитологии и генетики СО АН СССР в 1971 г. Семена пырея были собраны В.М. Чекуровым и В.М. Шепелевым в Восточном Казахстане с дикорастущей популяции на возвышенном и малоснежном месте, т. е. в условиях, предполагающих наличие у них высокой зимостойкости. 90 растениям, выращенным из этих семян, была предоставлена возможность свободно переопыляться, и семенные потомства от данной популяции составили базовый питомник из 1 тыс. растений (I₀), по 5–15 от каждой из родительских форм. Затем все растения подвергали принудительному самоопылению. К 1983 г. на экспериментальном участке ИЦиГ СО АН СССР была создана коллекция из более чем 2 тыс. растений различной степени инбридинга (I₀–I₃).

Описание исходного материала по морфологическим признакам

В составе как неинбридированного, так и инбридированного коллекционного материала было обнаружено большое разнообразие по морфологическим признакам. Выявлено различие между растениями по массе 1000 зерен и их окраске, высоте, ширине листьев. Цвет листьев варьировал от светло-зеленого до сизого, длина колосьев – от 10 до 25 см, число цветков в колосе – от 50 до 200, в колоске – от 3 до 9, число колосков – от 11 до 33. Основную массу составляли растения без опушения цветочных чешуй, но встречались единичные экземпляры

с их опушением. Содержание белка в зерне колебалось от 13,9 до 36,5 % (Орлова, 1988).

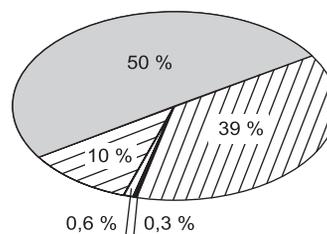
В дальнейшей работе методом принудительного самоопыления были получены частично гомозиготные растения пырея сизого до 5-го поколения инбридинга включительно. Лучшие из этих растений были использованы в скрещиваниях с сортами озимой пшеницы. После беккроссирования пшеницей получены многочисленные гибридные формы, различающиеся по морозостойкости, устойчивости к болезням и другим признакам. В результате проведенного отбора из некоторых форм получены сорта озимой пшеницы (Чекуров, Козлов, 2003). Данный подход оказался наиболее результативным из нескольких способов получения исходного материала для селекции озимой пшеницы, но потребовал больших затрат сил и времени.

Для ускорения селекционного процесса в ИЦиГ СО РАН была разработана и усовершенствована технология получения гомозиготных линий пырея сизого в культуре пыльников (получение гаплоидов через андрогенез *in vitro*) (Размахнин, 2003; Razmakhnin, Chekurov, 2003). Было установлено, что из многочисленной коллекции пырея сизого (проанализировано около 2 тыс. растений) лишь незначительная часть (менее 1 %) обладает способностью к гаплопродукции зеленых андрогенных растений. Около 50 % растений продуцировали нежизнеспособные альбиносные гаплоиды (рис. 2). Электронно-микроскопический анализ показал, что в развивающихся в культуре пыльников эмбриоидах большинства генотипов пырея сизого характерно наличие неустойчивых хлоропластов с аномальной однослойной мембраной. В процессе культивирования такие хлоропласты постепенно разрушаются. Это и является причиной развития нежизнеспособных альбиносных гаплоидов. Эмбриоиды с устойчивыми хлоропластами с нормальной двухслойной мембраной обнаружены у немногочисленных генотипов пырея сизого. Именно из этих эмбриоидов были получены зеленые гаплоидные растения-регенеранты хорошего качества (Galieva *et al.*, 1993). При отдаленной гибридизации наличие устойчивых хлоропластов в пыльце отцовского родителя имеет огромное значение, обусловленное тем, что при объединении разнородных геномов для их

нормальной работы требуются хлоропласты обоих родителей. Это было подтверждено в эксперименте по скрещиванию генотипов пырея сизого, различающихся по способности к гаплопродукции зеленых растений с образцами озимой пшеницы (Размахнин, 2003). Показано, что генотипы пырея, способные продуцировать зеленые гаплоиды хорошего качества, обладают лучшими гибридационными свойствами, оцененными по завязываемости и среднему весу гибридных семян.

С помощью усовершенствованной гаплоидной технологии в течение ряда лет были получены многочисленные зеленые гаплоиды пырея сизого, которые из пробирок высаживали в вазоны с почвой. При этом часть гаплоидов была подвергнута тесту на морозостойкость. В качестве стандартов брали растения морозостойких сортов озимой пшеницы.

Результаты показали, что гаплоиды *A. glaucum* проявляют широкий полиморфизм по морозостойкости, но большинство гаплоидов были очень высокоморозостойки и по времени промораживания до потери тургора в клетках листьев в 30–70 раз превосходили самые морозостойкие сорта озимой пшеницы (Размахнин, Чекуров, 2004, 2006) (рис. 3). После яровизации гаплоидные растения ранней весной высаживали в поле. В первые два года гаплоиды, как обычно для многолетних растений, постепен-



- – генотипы, дающие только альбиносы;
- ▨ – генотипы, дающие альбиносы и единичные зеленые гаплоиды;
- ▧ – неандрогенные генотипы;
- ▤ – генотипы, дающие около 50 % зеленых гаплоидов и 50 % альбиносов;
- – генотипы, дающие 100 % зеленых регенерантов.

Рис. 2. Распределение генотипов по способности к гаплопродукции в популяции пырея сизого *A. glaucum*.

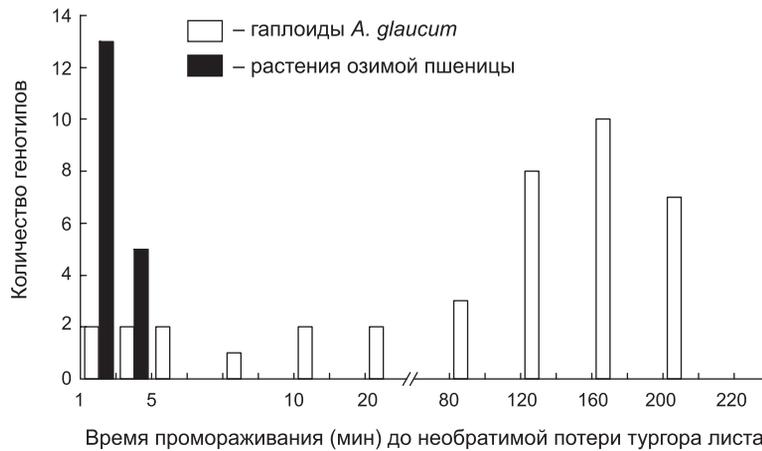


Рис. 3. Морозостойкость гаплоидов *A. glaucum* и растений озимой пшеницы.

но увеличивали массу корневой системы и продуктивную кустистость. При этом высота растений, размеры листа, колоса, пыльников были значительно уменьшены по сравнению с родительскими диплоидными растениями. Все колосья были стерильными. Через 3 года часть растений значительно увеличили свой габитус и приобрели признаки родительских диплоидных растений.

Цитологический анализ показал наличие у данных растений диплоидного набора хромосом ($2n = 42$). Таким образом, было показано спонтанное удвоение хромосомного набора у гаплоидов *A. glaucum* в полевых условиях, без обработки колхицином.

За период времени с 1987 по 2008 гг. была создана генетическая коллекция (более 500 растений) гаплоидов, удвоенных гаплоидов и донорных растений пырея сизого. Растения из коллекции были охарактеризованы по важным для селекции признакам, таким, как вегетативная мощь, морозостойкость, масса 1000 зерен, самофертильность, способность к гаплопродукции зеленых растений хорошего качества в культуре пыльников, способность к гибридизации с пшеницей.

Таким образом, в результате многолетней работы в ИЦиГ СО РАН создан уникальный генофонд пырея сизого. Актуальность его сохранения, расширения и дальнейшего изучения не подвергается сомнению и связана с необходимостью целенаправленного подбора исходного материала для селекционных программ по улучшению пшеницы и расширению

ее биоразнообразия, созданию кормовых сортов пырея и исследовательских работ по изучению закономерностей гаплопродукции в культуре пыльников и выяснению механизмов андрогенеза *in vitro* у злаков.

Литература

- Брежнев Д.Д., Шмараев Г.Е. Селекция растений в США. М.: Колос, 1972. 296 с.
- Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы. М.; Л.: Сельхозиздат, 1935. 246 с.
- Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции пшеницы // Теоретические основы селекции растений. Т. 1. М.; Л., 1935. С. 3–224.
- Гончаров П.Л. Вступительное слово на Вавиловских чтениях в связи со 110-летием со дня рождения // Генофонд сельскохозяйственных культур для селекции устойчивых сортов. Новосибирск, 1999. С. 3–6.
- Горбань Г.С., Шулындин А.Ф. Изучение 40–60-хромосомных пшенично-пырейных гибридов // Селекция и семеноводство: Республ. межвед. тематич. науч. сб. 1970. Вып. 16. С. 108–116.
- Горюнов Д.В. Озимые пшенично-пырейные гибриды в производстве // Отдаленная гибридизация в семействе злаков. М.: Изд-во АН СССР, 1958. С. 232–282.
- Елькина Е.Л., Донская Л.А. Итоги двухлетнего изучения особенностей отдаленных гибридов озимой пшеницы в условиях Новосибирска // Всесоюз. совещание по отдаленной гибридизации растений и животных (Москва, 27 февраля – 2 марта, 1968): Тез. докл. М., 1968. С. 109–111.
- Иванов Ю.И., Шепелев В.М. Озимый трехродовой гибрид № 125 // Роль отдаленной гибридизации в эволюции и селекции пшеницы: Тез. докл. Все-

- союз. совещания (Тбилиси, 16–20 июня, 1985). Тбилиси, 1985. С. 71.
- Иванова Н.Е., Болсунковская О.В. Яровая пшеница Грекум 114 // Селекция и семеноводство. 1972. № 3. С. 43–44.
- Кикоть И.И., Волкова Е.Ф. Стерильность и фертильность пшенично-пырейных гибридов // Проблема пшенично-пырейных гибридов. М.: Сельхозгиз, 1937. С. 38–60.
- Ковалева П.Г. Из работ по гибридизации пырея с пшеницей // Вестник гибридизации. 1941. № 2. С. 99–100.
- Лапченко Г.Д., Корнейчук С.Н., Соломатин Д.А., Скворцов С.Н. Селекция пшенично-пырейных гибридов на устойчивость к стеблевой ржавчине // Селекция и семеноводство. 1975. № 2. С. 36–39.
- Николаенко В.П. Влияние засоления на рост и развитие пырея удлиненного и овсяницы тростниковидной // Агрехимия. 1982. № 11. С. 96–102.
- Орлова А.М. Исследование генетической структуры восточно-казахстанской популяции пырея сизого *Agropyron glaucum* (Desf.) методом инбридинга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1988. 16 с.
- Плахотник В.В. Устойчивость разных видов пырея к стеблевой ржавчине // Вопросы селекции и семеноводства зерновых культур и многолетних трав. Целиноград, 1981. С. 112–119.
- Плешков Б.П., Лапченко Г.Д., Новиков Н.Н. Биохимическая характеристика белков зерна пшенично-пырейных гибридов // Изв. Тимирязевск. с.-х. академии. 1975. Вып. 5. С. 97–103.
- Рагулин А.А. Вопросы скрещиваемости пшеницы с пыреем // Отдаленная гибридизация в семействе злаковых. М.: Изд-во АН СССР, 1958. С. 181–196.
- Размахнин Е.П. Закономерности гаплопродукции в культуре пыльников пырея сизого *Agropyron glaucum* (Desf.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2003. 16 с.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Создание исходного материала пырея сизого с высоким андрогенным потенциалом, скрещиваемостью с пшеницей и морозостойкостью // Повышение эффективности селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений: Докл. и сообщения IX генетико-селекционной школы. Новосибирск, 11–16 ноября 2004.
- Размахнин Е.П., Чекуров В.М. Пути повышения морозостойкости пшеницы // Фактори експериментальної еволюції організмів. Київ: КВІЦ, 2006. С. 154–159.
- Сайфулин Р.Г., Воронина С.А., Крупнов В.А. Пырей промежуточный как донор устойчивости к болезням и белковитости зерна мягкой пшеницы // Роль отдаленной гибридизации в эволюции и селекции пшеницы. Тез. докл. Всесоюз. совещания (Тбилиси, 16–20 июня, 1985). Тбилиси, 1985. С. 64–65.
- Синеговец М.Е., Лапченко Г.Д. Локализация устойчивости к мучнистой росе пшеницы (*Erysiphe graminis* f. *tritici*) в хромосомах пырея (*Agropyron intermedium*) // Цитология и генетика. 1975. Т. 9. № 5. С. 439–442.
- Удачин Р.А. Селекция пшеницы в Индии // Селекция и семеноводство. 1972. № 3. С. 68–69.
- Федотова В.Д., Усова Т.К. Влияние хромосом X генома пырея *Agropyron glaucum* на проявление некоторых особенностей зимостойкости у пшенично-пырейных гибридов // Тез. докл. IV съезда ВОГиС им. Н.И. Вавилова (Кишинев, 1–5 февраля, 1982). Кишинев: Штиинца, 1982. Т. 3. С. 226–227.
- Федотова В.Д., Усова Т.К., Хвостова В.В. Роль отдельных хромосом генома X пырея в наследовании физиологических основ зимостойкости // Генетика. 1975. Т. 11. № 10. С. 5–9.
- Цакашвили Л.М., Сандухадзе Б.И. Промежуточные ППГ ($2n = 56$) как исходный материал для селекции на иммунитет // Роль отдаленной гибридизации в эволюции и селекции пшеницы: Тез. докл. Всесоюз. совещания (Тбилиси, 16–20 июня, 1985). Тбилиси, 1985. С. 67.
- Цвелев Н.Н. Обзор видов трибы Triticeae Dum. семейства злаковых (Poaceae) во флоре СССР // Новости систематики высших растений. Л.: Наука, 1973. Т. 10. С. 19–59.
- Цицин Н.В. Отдаленная гибридизация растений. М.: Сельхозгиз, 1954. 432 с.
- Цицин Н.В. О формо- и видообразовании // Гибриды отдаленных скрещиваний и полиплоиды. М.: Изд-во АН СССР, 1963. С. 5–24.
- Цицин Н.В. Успехи селекции по отдаленной гибридизации растений // Селекция и семеноводство. 1971. № 4. С. 16–21.
- Цицин Н.В. Многолетняя пшеница. М.: Наука, 1978. 288 с.
- Цицин Н.В. Озимые пшенично-пырейные гибриды // Теория и практика отдаленной гибридизации. М.: Наука, 1981. 160 с.
- Чекуров В.М., Орлова А.М. Выделение гомозиготных линий пырея сизого для скрещивания с мягкой пшеницей // С.-х. биология. 1982. Т. 17. № 1. С. 55–61.
- Чекуров В.М., Козлов В.Е. Низкий метаболизм и высокая морозостойкость – важные компоненты выживаемости озимой пшеницы в Сибири // Матер. 1-й Центрально-Азиатской конф. по пшенице. Алматы, 2003. С. 222.

- Cauderon Y. Use of *Agropyron* species for wheat improvement // Broadening the genetic base of crops: Proc. Conf. Wageningen. Netherlands. 3–7 July, 1978 / Eds A.M. Harten, A.C. Zeven. Wageningen. Netherlands: Pudoc, 1979. P. 175–186.
- Dewey D.R. Salt tolerance of 25 strains of *Agropyron* // Agron. J. 1960. V. 52. P. 631–635.
- Dewey D.R. Intermediate Wheatgrasses of Iran // Crop Sci. 1978. V. 18. № 1. P. 48.
- Diaconi P. Caryological aspects of the F₁ hybrid *Triticum aestivum* × *Agropyron intermedium* // Analele Institutului de Cercetari pentru Cereale si Plante Technice-Fundulea. 1969. № 35. P. 189–200.
- El-Ghavas M.I., Khalil H.A. The production and evaluation of a *Triticum*–*Agropyron* hybrid // Egyptian J. Bot. 1973. V. 16. № 1/3. P. 483–499.
- Fatin A.M.B. Analysis of the breeding potential of wheat–*Agropyron* and wheat–*Elymus* derivatives 1. Agronomic and quality characteristics // Hereditas. 1983. V. 98. № 2. P. 287–295.
- Galieva E.R., Razmakhnin E.P., Khristolubova N.B., Chekurov V.M. Ultrastructural organization of chloroplasts of green and albinous regenerant plants of wheatgrass // Proc. 1st Intern. Conf. Actual Problems of Agricultural Intensification. 22–25 June, 1993. Shorthandy. P. 79.
- Graham J.S., Kibirige-Sebunya I.M. Preferential abortion of gametes in wheat induced by an *Agropyron* chromosome // Can. J. Genet. Cytol. 1983. V. 25. № 1. P. 1–6.
- Halloran G.M. *Ophiobolus graminis* resistance in the genera *Agropyron* and *Secale* and its possible significance to wheat breeding // Euphytica. 1974. V. 23. № 2. P. 225–235.
- Horovitz N. Breeding of hybrids between *Triticum* and *Agropyron* species // Boletin Genetico. Instituto de Fitotecnica. Castelvay, 1969. № 6. P. 11–19.
- Hsam S.L., Zeller F.J. Relationship of *Agropyron intermedium* chromosomes determined by chromosome pairing and alcohol dehydrogenase isozymes in common wheat background // Theor. Appl. Genet. 1982. V. 63. № 3. P. 213–227.
- Kunovski Zh., Paniatov J. Reaction of some Bulgarian and foreign wheat varieties and two *Agropyron* species to two strains of bunt // Genetica i Seleksiya (Bulgaria). 1971. № 4 (6). P. 391–395.
- Larter E.N., Elliot F.C. An evaluation of different ionizing radiations for possible use in the genetic transfer of bunt resistance from *Agropyron* to wheat // Canad. J. Bot. 1956. V. 34. № 5. P. 817–823.
- Lay C.L., Wells D.C., Gardner W.S. Immunity from wheat streak mosaic virus in irradiated agrotriticum progenies // Crop Sci. 1971. V. 11. № 3. P. 431–432.
- Li J.L., Sun S.C. Study of the genetics of the intermediate forms derived from wheat × *Agropyron glaucum* crosses // Acta Genet. Sin. 1980. V. 7. № 2. P. 157–164.
- Malik H.S., Bhadoria S.S., Mishra R.K. Effect of single translocation involving wheat and *Agropyron* chromosomes (T) on fertility, coleoptile length and plant height of wheat // Indian Res. J. 1979. V. 10. № 3. P. 197–200.
- Mc Guire P.E., Dvorak J. High salt-tolerance potential in wheatgrasses // Crop Sci. 1981. V. 21. № 5. P. 497–500.
- Raj A.S. Meiotic studies of wheat streak mosaic resistance in *Agrotriticum* hybrids // Heredity. 1969. V. 60. № 1. P. 27–33.
- Razmakhnin E.P., Chekurov V.M. Development of haploid biotechnology for wheatgrass *Agropyron glaucum* (Desf.) // Abstr. 1st Central-Asian Wheat Conference. Almaty, June 10–13, 2003. P. 524.
- Schaeffer J.R., Baewa R., Kim J.H. Asinapsis and different types of chromosome pairing in *Triticum* × *Agropyron* derivatives // Agronomy Abstracts. 1970. P. 19.
- Schulz-Schaeffer J.R. An approach toward the development of hybrid intermediate wheatgrass *Agropyron intermedium* (Host) Beauv. // Z. Pflanzenzüchtg. 1972. Bd. 67. S. 202–220.
- Shannon P.R.M., Nicholson A.E., Dunwell J.M., Davies D.R. Effect of anther orientation on microspore callus production in barley (*Hordeum vulgare* L.) // Plant Cell, Tissue, Organ Cult. 1985. V. 4. № 3. P. 271–280.
- Sharma H.C., Gill B.S. New hybrids between *Agropyron* and wheat. 2. Production, morphology and cytogenetic analysis of F₁ hybrids and backcross derivatives // Theor. Appl. Genet. 1983. V. 66. № 2. P. 111–121.
- Szalay D. The use of wheat–*Agropyron* hybrids in wheat breeding // Buzataracbura hibridek felhasnalosa a buzanemestesben. Agratudmanyi Kzlemenyek, 1971. V. 30. № 1/2. P. 169–178.
- Wienhues A. Substitution von Weizenchromosomen aus verschiedenen homeologen Gruppen durch ein Fremdchromosomen aus *Agropyron intermedium* // Z. Pflanzenzüchtg. 1971. Bd. 65. № 4. S. 307–321.
- Young B.A., Schulz-Schaeffer J. Meiotic studies of 3 generations of backcrosses to the amphydiploid hybrid *Triticum durum* Desf. × *Agropyron intermedium* (Host) Beauv. // Wheat Inf. Serv. 1979. V. 3. № 39. P. 5–9.

**THE GENE POOL OF *AGROPYRON GLAUCUM* AS A SOURCE
FOR INCREASING COMMON WHEAT BIODIVERSITY**

E.P. Razmakhnin

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: eprazmakh@yandex.ru

The review of the literature on wheat grass *Agropyron glaucum*, a perennial cereal valuable for wheat improvement and increasing its biodiversity has been made. Results of long-term research conducted at the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Science on production of the inbred and androgenic lines of *A. glaucum* and their subsequent study are reported. The information on creation of a genetic collection of *A. glaucum* plants with genetically useful traits is also provided.

О ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ЯРОВЫХ РАСТЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, РЖИ И ТРИТИКАЛЕ

П.И. Степочкин, Г.В. Артемова

Государственное научное учреждение Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции СО РАСХН, Новосибирск, Россия, e-mail: peter_stepochkin@ngs.ru

Сроки хранения семян значительно увеличивали частоту спонтанного возникновения яровых растений в популяциях озимых тритикале при весеннем севе. Были найдены положительные корреляции между частотой их появления и температурой воздуха в июне, количеством осадков в июле в год формирования семян у озимых растений тритикале. Сорты ржи и некоторые формы тритикале различались по этому показателю. Для объяснения механизма спонтанного возникновения яровых растений в популяциях озимых культур используется гипотеза об участии мобильных элементов.

Ключевые слова: озимая пшеница, озимая рожь, тритикале, яровость, мутации.

В популяциях озимых культур пшеницы, ржи и тритикале при весеннем севе с различной частотой могут возникать растения, способные переходить к генеративному развитию без воздействия на них низких положительных температур (Зарубайло, 1952; Богомяков, 1963; Высокос, 1963; Styorochkin, 2001; Артемова, Степочкин, 2003, 2005; Рутц, 2005). Данный признак был доминантным, и большинство выделенных растений были гетерозиготными, так как потомство расщеплялось на яровые и озимые в соотношении, близком к 3 : 1 (Styorochkin, 2001; Артемова, Степочкин, 2003).

У пшенично-ржаных амфиплоидов яровые растения возникали спонтанно с различной частотой в зависимости от года урожая семян озимых растений, генотипа тритикале и года весеннего сева (Степочкин, 2005). На озимой пшенице было показано, что пониженные температуры в период созревания семян на материнском растении способствовали их яровизации, вследствие чего при весеннем севе из них с большой частотой вырастали растения, способные переходить к генеративному развитию (Зарубайло, 1952).

В данной работе ставилась задача проанализировать влияние сорта, срока хранения семян и условий года формирования семян озимых

культур на частоту возникновения яровых растений в их популяциях.

Материал и методы

Объектом исследований в данной работе были популяции девяти форм озимых тритикале О.312, Цекад 305, Цекад 90, Сирс 57, Алтайское 2, Алтайское 1, № 364, ЛМК 462 и УК 30, озимого сорта мягкой пшеницы Лютесценс 105, озимых сортов диплоидной ржи Короткостебельная 69 и Сибирская 82, тетраплоидной ржи Тетра Короткая и Влада.

Озимые сорта трех культур высевали весной для выявления в их популяциях биотипов, перешедших к генеративному развитию без яровизации, т. е. спонтанно возникших яровых растений.

Опыт закладывали в 1999, 2000, 2002, 2003, 2005 и 2007 гг. Семена отбирали соответственно из репродукции 1996, 1997, 1999, 2000, 2002 и 2006 гг. Количество растений в посевах каждой формы варьировало от 6138 (Алтайское 1) до 1721300 (ЛМК 462). Число яровых и озимых растений подсчитывали в середине–конце сентября.

Критерий однородности χ^2 и коэффициент корреляции вычислялись по П.Ф. Рокицкому (1973).

Результаты и обсуждение

У высеванных весной в поле в различные годы озимых форм тритикале, пшеницы и ржи обнаруживалась разная доля растений, перешедших к генеративному развитию (рис. 1). Наибольшая доля (1 : 200) таких спонтанно возникших яровых растений отмечена в 2002 г. в популяции диплоидной ржи Сибирская 82. У ржи отмечено существенное сортовое различие в пределах каждого уровня ploидности, а также между двумя уровнями ploидности (см. табл. 1).

В пределах изученных нами форм тритикале Цекад 305, Цекад 90, О.312 и пшеницы Лютеценс 105 частота появления яровых растений в популяции достоверно увеличивалась с удлинением срока хранения семян при условии, когда семена в сравниваемых парах были одного года

репродукции. Самое меньшее значение χ^2 , равное 9,37, было по сорту Цекад 90, высеванному в 2000 и 2003 гг., тем не менее оно значительно превосходило табличное значение 3,84 при $P = 0,05$ %.

Между собой по частоте появления яровых растений существенно различались сорта тритикале одного срока хранения семян и одного года посева О.312 и УК 30 ($\chi^2 = 115,9$), Алтайское 2 и № 364 ($\chi^2 = 103,3$), а также сорта ржи в пределах одного уровня ploидности. Не было различия между такими сортами, как Сирс 57 и Цекад 90 ($\chi^2 = 0,258$), Цекад 90 и О.312 ($\chi^2 = 0,0005$), ЛМК 462 и Алтайское 1 ($\chi^2 = 1,59$). То есть сортовое различие проявилось только между некоторыми генотипами.

Изучение популяции тритикале О.312 разных лет репродукции в опыте 2003 г. позволили

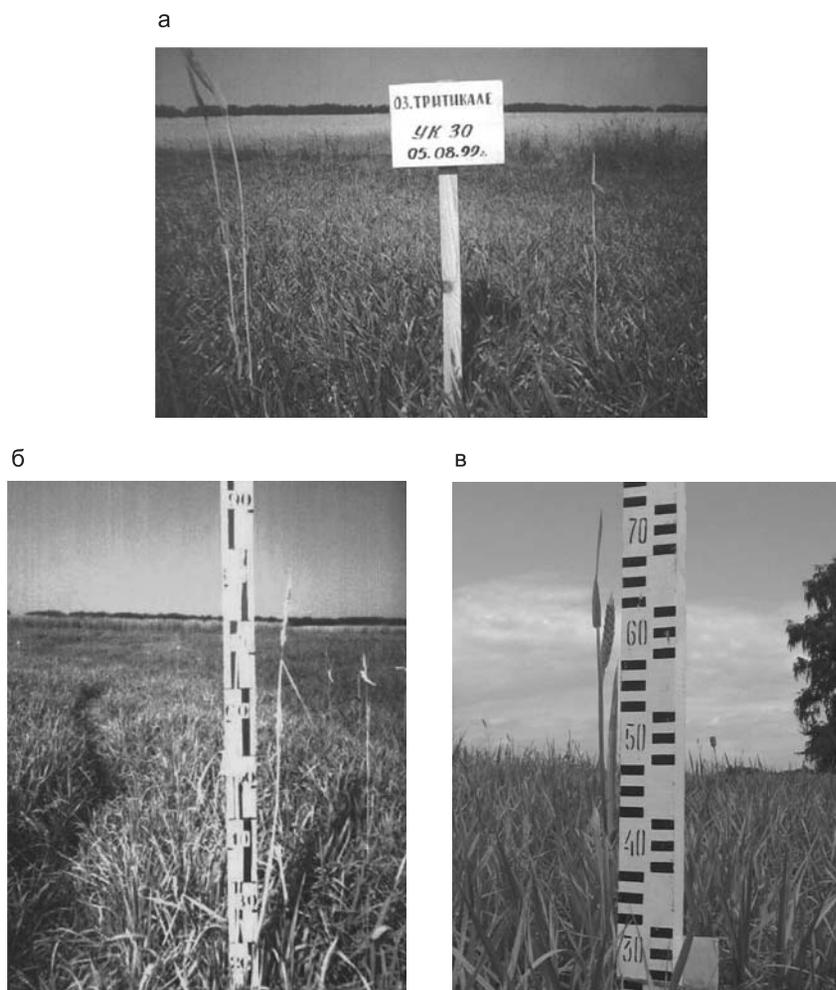


Рис. 1. Появление растений, перешедших к генеративному развитию, в популяциях озимой тритикале УК 30 (а), ржи Короткостебельная 69 (б) и пшеницы Лютеценс 105 (в) при весеннем севе.

Таблица 1

Частота появления яровых растений в популяциях озимых тритикале, ржи и пшеницы из семян разных лет репродукций и в разные годы опыта

Наименование культур, сортов	Год репродукции семян	Год весенне-го сева	Количество растений		Доля яровых растений, %	$\chi^2_{\text{факт.}} (\chi^2_{0,05} = 3,84)$	
			всего	яровых		по годам опыта	по сортам
Тритикале							
Цекад 305	1996	2000	2471040	740	0,03	61,63	
Цекад 305	1996	2005	46380	44	0,095		
Сирс 57	1999	2001	18000	2	0,0111		
Сирс 57	2006	2007	1744400	7	0,0004		0,258
Цекад 90	2006	2007	2145000	11	0,0005		
Цекад 90	1999	2000	813120	11	0,0014	9,37	
Цекад 90	1999	2003	11848	2	0,0169		
О.312	1999	2003	12127	2	0,0165	15,08	
О.312	1999	2002	323400	6	0,0019		
О.312	2002	2003	12372	26	0,2101		
О.312	1996	2003	10780	20	0,1855	11,85	
О.312	1996	1999	602000	519	0,0862		
УК 30	1996	1999	303000	75	0,0247		
Алтайское 2	2000	2002	107800	373	0,346		103,3
№ 364	2000	2002	203300	333	0,1638		
ЛМК 462	1997	2000	1721300	602	0,03497		1,59
Алтайское 1	1997	2000	6138	4	0,06516		
Рожь диплоидная, $2x = 14$							
Короткостебельная 69	2001	2002	212520	218	0,102		599,6
Сибирская 82	2001	2002	203280	1065	0,524		
Рожь тетраплоидная, $4x = 28$							
Тетра Короткая	2001	2002	126280	64	0,051		42,4
Влада	2001	2002	180180	20	0,011		
Пшеница мягкая							
Лютесценс 105	1996	1999	293500	3	0,0010	15,95	
Лютесценс 105	1996	2005	407400	32	0,0079		

выявить некоторые связи между частотой появления яровых растений и погодными условиями (табл. 2).

Высокие положительные значения коэффициента корреляции получены по частоте появления яровых растений и температуре воздуха в июне года репродукции семян озимой тритикале ($r = +0,999$; $t_{\text{факт.}} = 46,6$; $t_{0,05} = 12,7$), а также по частоте появления яровых растений и количеству выпавших осадков в июле

года репродукции семян озимой тритикале ($r = +0,998$; $t_{\text{факт.}} = 24,8$; $t_{0,05} = 12,7$). Коэффициент корреляции между частотой появления яровых растений и температурой воздуха в июле года репродукции семян озимой тритикале был отрицательным и ниже порога достоверности ($r = -0,70$; $t_{\text{факт.}} = -1,4$; $t_{0,05} = 12,7$).

В популяциях озимых культур ржи и тритикале появление яровых растений не могло быть ни механической примесью, ни результатом

Таблица 2

Корреляция частоты появления яровых растений тритикале в 2003 г. с погодными условиями в летний период разных лет репродукции семян

Наименование формы тритикале	Год репродукции	Частота яровых растений	Средняя температура воздуха, °С		Количество осадков в июле, мм
			в июне	в июле	
О.312	1999	0,01649	15,1	22,2	9,2
О.312	1996	0,18553	16,7	21,6	59,2
О.312	2002	0,21015	17	18,1	70,5
R			+0,9995	-0,70	+0,998
$t_{\text{факт.}} (t_{0,05} = 12,7)$			46,6	-1,4	24,8

переопыления озимых форм яровыми, так как яровые формы этих культур никогда не высевались ни на данных участках, ни поблизости, ни даже в Новосибирской области (Styopochkin, 2001; Артемова, Степочкин, 2003).

Спонтанные яровые мутанты возникают с гораздо более редкой частотой, чем индуцированные мутанты (Рутц, 2005). Однако наши исследования тритикале показывают, что условия, при которых формировались семена исходной популяции, и условия, при которых вегетировали выросшие из них растения, могут значительно изменить частоту появления яровых растений (мутантов).

В некоторых работах сообщаются факты частичной яровизации семян озимой пшеницы в процессе их формирования на материнском растении при низких положительных температурах (Зарубайло, 1952; Рутц, 2005), а также при раннем весеннем севе, когда почва еще достаточно холодная для прохождения яровизации у проростков (Рутц, 2005). В таких популяциях увеличивалось количество растений, перешедших к генеративной фазе развития и давших жизнеспособные семена. Но это свойство в последующих поколениях наследовалось не от всех, а лишь от небольшой доли изученных растений.

Известно, что скорость и тип развития растений определяются сложным взаимодействием как их генетических систем, так и их генотипов с почвенно-климатическими условиями произрастания. Проявление этих свойств у яровых пшениц, тритикале и ржи во многом зависит от системы доминантных генов, определяющих

реакцию растений на яровизацию (Хотылева и др., 1995). У пшеницы известен основной ген *Vrn1*, который вырабатывает транскрипт, переключающий развитие растений от вегетативного к генеративному и локализованный в хромосомах пятой гомеологической группы (Law *et al.*, 1976; Maystrenko, 1980; Kato *et al.*, 1993; Korzun *et al.*, 1997; Danyluk *et al.*, 2003), а у ржи – в 5R хромосоме (Кобылянский, 1982).

Кроме того, в седьмой гомеологической группе хромосом этих культур находится ген *Vrn2*, доминантный аллель которого эпистатически взаимодействует с рецессивными аллелями гена *Vrn1*, подавляя их экспрессию посредством продукта-репрессора, синтезирующегося на матричной РНК TaVRT-2, следствием чего является прекращение синтеза транскрипта TaVRT-1, необходимого для запуска механизма генеративного развития растений. Наличие хотя бы одного доминантного аллеля гена *Vrn1*, нечувствительного к действию репрессора, вырабатываемого геном *Vrn2*, приводит к активной экспрессии локуса *Vrn1*, более того, его продукт сам начинает подавлять синтез репрессора гена *Vrn2* (Yan *et al.*, 2004; Kane *et al.*, 2005).

У гексаплоидных тритикале возможны мутации гена *Vrn1*, расположенного в хромосомах пятой гомеологической группы пшеницы и ржи. Его доминантное состояние хотя бы в одной из этих хромосом приведет к яровому типу развития растений.

Имеются литературные данные о том, что доминантные аллели *Vrn 1* в процессе эволюции пшеницы возникли в результате делеций в промоторном участке рецессивных генов *vrn1*

предковых озимых форм пшеницы, в результате чего фактор *TaVRT-2* не может распознать этот участок гена и выключить транскрипцию *TaVRT-1* фактора (Danyluk *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2004; Fu *et al.*, 2005; Loukoianov *et al.*, 2005).

Для объяснения механизма спонтанного появления яровых растений предполагается участие в наследственных изменениях растений их мобильных генетических элементов (МГЭ), возможно, транспозонов, находящихся в непосредственной близости или в самой регуляторной области гена *Vrn1*. Активность одной или нескольких копий мобильных элементов вблизи регуляторной части гена могла привести к образованию делеции сайта связывания репрессора в промоторной области вследствие ряда возможных механизмов: вырезания/встраивания МЭ, рекомбинации между копиями МЭ или образования локальных повреждений ДНК (в первую очередь дупликации разрывов) с последующим образованием делеции в ходе работы систем клеточной репарации. Доминантный дерепрессированный аллель сайта связывания репрессора в гене *Vrn1* может возникнуть и в результате образования протяженной инверсии между двумя копиями МЭ, в ходе которой сайт связывания репрессора «переносится» на существенное расстояние от области начала транскрипции гена, или даже незначительной инверсии, разъединяющей сайт связывания и начало транскрипции за счет внедрения между ними барьерной/инсуляторной последовательности (ограничивающей *cis*-взаимодействия между регуляторными областями, оказавшимися по разные стороны от нее).

Образование дерепрессированного доминантного аллеля *Vrn1* вследствие активности МЭ может происходить (и, вероятно, происходит) постоянно с частотой, соответствующей частоте МЭ-опосредованных событий, характерной для данного вида. Следует заметить, что в отсутствие давления специфических факторов отбора (температурный режим, фотопериодизм) возникновение ярового фенотипа, соответствующего такому доминантному аллелю, не будет влечь за собой рост приспособленности его носителей, и такие аллели будут со временем элиминироваться из популяции. Однако в популяциях умеренного климатического пояса яровой фенотип адаптивен к сезонным изме-

нениям климата, и доминантные *Vrn1* аллели, однажды появившись, будут иметь селективное преимущество и сохраняться в высокой концентрации.

Кроме того, следует отметить, что экологические факторы в таких популяциях могут носить стрессовый характер, а воздействие таких факторов на геном, как было предположено Б. Мак-Клинтон и продемонстрировано в ряде экспериментальных работ, ведет к мобилизации геномных МЭ (McClintock, 1984; Чересиз и др., 2008). Индукция экспрессии и/или перемещений МЭ широким спектром стрессовых факторов геномной и окружающей среды особенно характерна для растений. В число таких факторов входят вирусные, бактериальные и микозные инфекции, процедуры культивирования растительных клеток *in vitro* (получение каллусных культур, изоляция протопласта и др.), обработка рядом химических препаратов, ранение (Grandbastien, 1998), а также климатические факторы, в частности, холодостресс (Casacuberta, Santiago, 2003).

Индукцированная стрессом активация растительных ретротранспозонов связывается с наличием в их промоторной области (5'-длинный концевой повтор) *cis*-регуляторных последовательностей, схожих с регуляторными последовательностями генов системы стрессового ответа растений, способных откликаться на различные стимулы (Grandbastien, 1998). Альтернативный путь стрессовой активации МЭ растений включает в себя механизм релаксации систем геномного сайленсинга под действием стресса, как это продемонстрировано в случае активации ретротранспозонной последовательности *ZmM11* рисового генома, вызываемой сильнейшим деметилированием содержащего ее локуса под действием холода (Steward *et al.*, 2002).

Таким образом, в растительных популяциях умеренных широт можно ожидать вспышки мутабельности, связанные с активностью МЭ под действием экологических факторов, и повышенную частоту фиксации тех инсерционных аллелей, наличие которых будет связано с адаптацией к действующим стрессовым факторам и будет предоставлять селективное преимущество их носителям. Представляется вполне вероятным, что вышеуказанные факто-

ры могли приводить к появлению делеционных дерепрессированных аллелей *VRN1*, запускающих адапционную генетическую программу, характерную для яровых растений.

У пшеницы сорта Лютесценс 105 в 2005 г. у тритикале О.312 в 2003 г. и у ржи Сибирская 82 в 2002 г. наблюдали высокую частоту появления яровых мутантов, что очень похоже на «вспышку» мутаций. У изученных форм озимых культур на активность таких элементов могли повлиять летние условия во время цветения и формирования семян при обычных для озимых культур сроках вегетации, что в конечном итоге выразилось в различной частоте появления яровых растений.

Выводы

Частота спонтанного появления яровых растений в популяциях изученных форм озимых культур пшеницы, ржи и тритикале при весеннем севе в значительной мере увеличивалась от удлинения срока хранения семян, сформировавшихся на озимых растениях. У озимой тритикале О.312 положительные корреляции найдены между частотой появления яровых растений и температурой воздуха в июне месяце, а также количеством осадков в июле месяце в годы формирования семян на озимых материнских растениях. Различия по частоте спонтанного появления яровых растений отмечены между сортами ржи и некоторыми формами тритикале. Для объяснения механизма появления яровых растений в популяциях озимых культур предполагается участие мобильных генетических элементов.

Литература

- Артемова Г.В., Степочкин П.И. Изучение частоты проявления спонтанных яровых мутантов в популяциях сортов озимой ржи двух уровней плоидности // Матер. междунар. науч.-практич. конф. 7–9 июля 2003 г. Киров, 2003. С. 58–60.
- Богомяков С.Т. Изменение наследственности пшеницы путем направленного воспитания // Матер. науч. конф.: Управление наследственностью сельскохозяйственных растений. М.: Изд-во с.-х. литературы, журналов и плакатов, 1963. С. 220–226.
- Высокос Г.П. Выведение сортов яровых культур путем направленного воспитания // Матер. науч. конф.: Управление наследственностью сельскохозяйственных растений. М.: Изд-во с.-х. литературы, журналов и плакатов, 1963. С. 255–269.
- Зарубайло Т.Я. О возможности яровизации незрелых семян на материнском растении // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1952. Т. 29. Вып. 3. С. 3–11.
- Кобылянский В.Д. Морфологические особенности ржи в связи с задачами селекции // Рожь. Генетические основы селекции. М.: Колос, 1982. С. 42–58.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйш. шк., 1973. 320 с.
- Рутц Р.И. Научные основы и практические результаты селекции яровой мягкой пшеницы и озимых мягликовых культур в Западной Сибири. Новосибирск: ИПЦ Юпитер, 2005. 624 с.
- Степочкин П.И. Факторы, влияющие на частоту возникновения яровых растений в популяциях озимых тритикале // Докл. РАСХН. 2005. № 2. С. 3–5.
- Хотылева Л.В., Каминская Л.Н., Корень Л.Б. и др. Создание новых генетических источников тритикале на основе рекомбинации генов в системах геномно-замещенных форм, линий пшеницы с различной комбинацией *Vrn*-генов и гомозиготизации в культуре *in vitro* // Генетические основы селекции сельскохозяйственных растений. М.: Наука, 1995. С. 35–55.
- Чересиз С.В., Юрченко Н.Н., Иванников А.В., Захаров И.К. Мобильные элементы и стресс // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 216–241.
- Casacuberta J., Santiago N. Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes // Gene. 2003. V. 311. P. 1–11.
- Danyluk J., Kane N.A., Breton G. *et al.* TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals // Plant Physiology. 2003. V. 132. P. 1849–1860.
- Fu D., Szucs P., Yan L. *et al.* Large deletions within the first intron in VRN-1 are associated with spring growth habit in barley and wheat // Mol. Genet. Genomics. 2005. V. 273. P. 54–65.
- Grandbastien M.A. Activation of plant retrotransposons under stress conditions // Trends Plant Sci. 1998. V. 3. P. 181–187.
- Kane N.A., Danyluk J., Tardif G. *et al.* TaVRT-2, a member of the StMADS-11 clade of flowering repressors, is regulated by vernalization and photoperiod in wheat // Plant Physiol. 2005. V. 138. P. 2354–2363.
- Kato K., Nakagawa K., Kuno H. Chromosomal location

- of the genes for vernalization response, *Vrn2* and *Vrn4*, in common wheat, *Triticum aestivum* L. // Wheat Inform. Service. 1993. V. 76. P. 53.
- Korzun V., Roder M., Worland A.J., Borner A. Interchromosomal mapping of genes for dwarfing (*Rht 12*) and vernalization response (*Vrn1*) in wheat by using RFLP and microsatellite markers // J. Plant. Breed. 1997. V. 116. P. 227–232.
- Law C.N., Worland A.J., Giorgi B. The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat // Heredity. 1976. V. 36. № 1. P. 49–58.
- Loukoianov A., Yan L., Blechl A. *et al.* Regulation of *VRN-1* vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat // Plant Physiol. 2005. V. 138. P. 2364–2373.
- Maystrenko O.I. Cytogenetic study of the growth habit and ear-emergence time in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Well-Being in Mankind and Genetics: Proc. of the XIV Intern. Congr. of Genetics. Moscow: MIR Publishers, Russia. 1980. V. 1. P. 267–282.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge // Science. 1984. V. 226. P. 792–801.
- Steward N., Ito M., Yamaguchi Y. *et al.* Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. № 40. P. 37741–37746.
- Stypochkin P.I. Working out and studies of Siberian triticale genepool // Genetic collections, isogenic and alloplasmic lines: Proc. of Intern. Conf. Novosibirsk, Russia, 30 July – 3 August 2001. 2001. P. 235–237.
- Yan L., Loukoianov A., Blechl A. *et al.* The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization // Science. 2004. V. 303. № 5664. P. 1640–1644.

ABOUT FACTORS INFLUENCING THE SPRING PLANTS APPEARANCE IN THE POPULATIONS OF WINTER WHEAT, RYE AND TRITICALE

P.I. Stepochkin, G.V. Artemova

State Scientific Institution Siberian Research Institute of Plant Industry and Selection SB RAAS,
Novosibirsk, Russia, e-mail: peter_stepochkin@ngs.ru

Summary

The long period of winter triticale seeds storage considerably increased the frequency at which spontaneous spring plants appeared in their populations after spring sowing. Positive correlations have been found between the frequency of spring plants appearance and air temperature in June and the amount of precipitation in July in the years of winter triticale seeds forming. Different frequency of spring plants appearance was noted between the rye and some triticale varieties. To explain the mechanism of spontaneous appearance of spring plants in the population of winter crops, the activity of mobile genetic elements is suggested.

МЕТОДОЛОГИЯ ФОРМИРОВАНИЯ БАЗ ДАННЫХ ПО СОРТАМ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ

В.В. Альт¹, П.Л. Гончаров¹, Н.А. Сурин²

¹ Сибирское отделение Россельхозакадемии, р.п. Краснообск, Новосибирская обл.;

² Красноярский НИИ сельского хозяйства, Красноярск

Рассматриваются методологические аспекты формирования баз данных зерновых культур на примере базы данных яровых сортов мягкой пшеницы и ячменя сибирской селекции. Предложена классификация признаков, описательная модель сорта и программно-аппаратная среда информационного продукта. Приведены элементы созданных баз данных сортов мягкой пшеницы и ячменя. Базы данных предполагается использовать в научных учреждениях, вузах сельскохозяйственного и биологического профиля и в сельскохозяйственном производстве, а также для регистрации биоразнообразия сельскохозяйственных культур региона.

Ключевые слова: пшеница, ячмень, сорта, базы данных.

Исследования показывают, что в России при сокращении использования высокоинтенсивных технологий будет расширяться применение ресурсосберегающих технологий с использованием сортов местной селекции, обеспечивающих производство конкурентоспособной продукции. Создание такого рода технологических решений регионального уровня базируется на глубоком анализе всего многообразия технологических, технических, сортовых, породных, агроклиматических, экономических, экологических и других особенностей и решений, свойственных для конкретной природно-климатической зоны. Осуществить такой глубины анализ и провести синтез возможных решений по оптимальному многовариантному выбору необходимого технологического процесса возможно при помощи информационных технологий (Альт, 2000; Гончаров, 2001).

Роль сорта в повышении продуктивности растениеводства трудно переоценить. Основные требования, которым должны удовлетворять новые сорта, – это высокая степень адаптации к условиям предполагаемой зоны их произрастания, заданные параметры продуктивности, качества, устойчивости к абиотическим и биотическим стрессам, стабильность урожаев при неустойчивых гидротермических условиях. Новые сорта должны превосходить возделываемые в зоне по комплексу или по основным

показателям. Эти положения легли в основу концепции модели сорта и определяют подходы к решению задачи оптимизации селекционного процесса (Гончаров, 2001).

Одновременно следует отметить, что подбор сортов как для решения задач селекции, так и для сельскохозяйственных товаропроизводителей, – задача, которая сегодня решается, как правило, на основе эвристических знаний и интуиции. Необходимость создания информационных систем в селекции и растениеводстве продиктована тем, что в НИУ СО Россельхозакадемии накоплен огромный селекционный материал по различным культурам, в том числе по сортам пшеницы и ячменя. Так, с 1985 по 2006 гг. в регионе районировано 63 сорта мягкой яровой пшеницы, 9 сортов твердой яровой пшеницы, 7 сортов мягкой озимой пшеницы сибирской селекции и 35 сортов ячменя. Весь фактический материал требует автоматизации просмотра и анализа. С целью оптимизации селекционного процесса и выполнения конкретных производственных задач при выборе того или иного сорта ГНУ СибФТИ, СибНИИРС и КрасНИИСХ СО Россельхозакадемии разработаны поисковые базы данных по сортам пшеницы и ячменя сибирской селекции.

При создании поисковых баз данных предложен общий методический подход, который заключается в анализе предметной области, систематизации знаний, построении информационных моделей, моделей представления знаний и данных и реализации алгоритмов их представления в электронном виде. С целью формализации поиска сорта с заданными показателями предлагается использовать информационную модель развития растения (рис. 1). Анализ информационных потоков информационной модели, описывающей развитие растений и возможные изменения условий его развития, позволили сформулировать гипотезу о единстве информационных потоков, характеризующих как элементы растения (корень, стебель и колос), так и растение в целом. С учетом разработанной

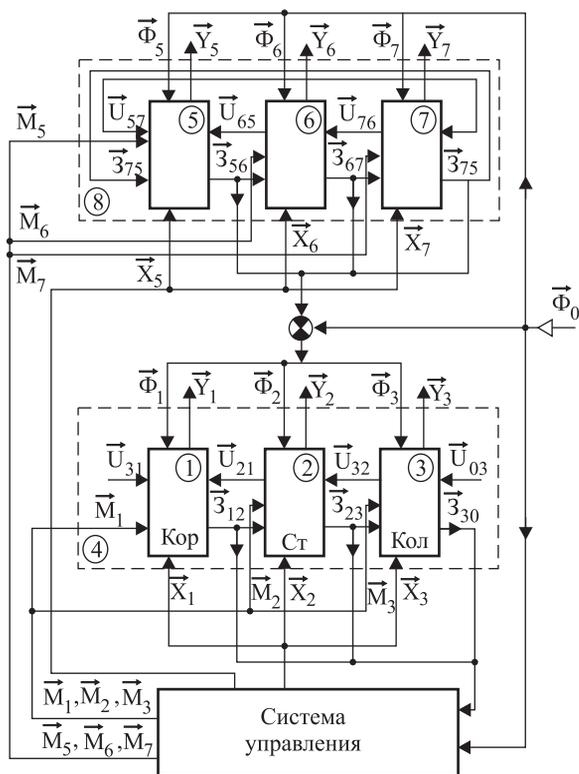


Рис. 1. Информационная модель развития зерновых колосовых культур.

Потоки информации: $\vec{\Phi}$ – о внешних факторах; \vec{Z} – о целевой функции; \vec{X} – об управляющих воздействиях; \vec{U} – о взаимном влиянии составляющих модели; \vec{Y} – о влиянии на окружающую среду; \vec{M} – о состоянии составляющих модели; 1 – корневая система; 2 – стебель; 3 – колос; 4 – растение; 5 – болезни; 6 – сорняки; 7 – вредители; 8 – фитосанитарное состояние.

классификации создана теоретическая информационная модель описания сортов зерновых культур (Альт, 2000), практическая реализация которой представляет форму конкретного описания признаков и характеристик сорта, включающего ботанические характеристики, биологические и хозяйственные особенности, а также устойчивость к стрессовым факторам, т. е. характеристики созданных сортов, которые должны найти отражение в информационно-поисковой системе. Систематизированный и формализованный таким образом материал используется для наполнения баз данных. Графический материал в базах данных представлен в виде цветных фотографий колоса, зерен и колосковых чешуй. Исходные данные сформированы при помощи Microsoft Access, интерфейс пользователя разработан на основе комбинирования программной среды объектно ориентированного программирования Delphi 6 в приложении Windows Microsoft Access.

Совместный анализ информационных потоков развития растения и описания сорта на примере яровой пшеницы Новосибирская 89 (табл. 1) позволил систематизировать информационные потоки и составляющие описания, которые можно представить в следующем виде:

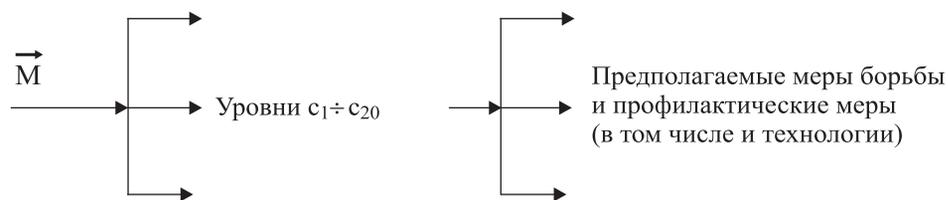
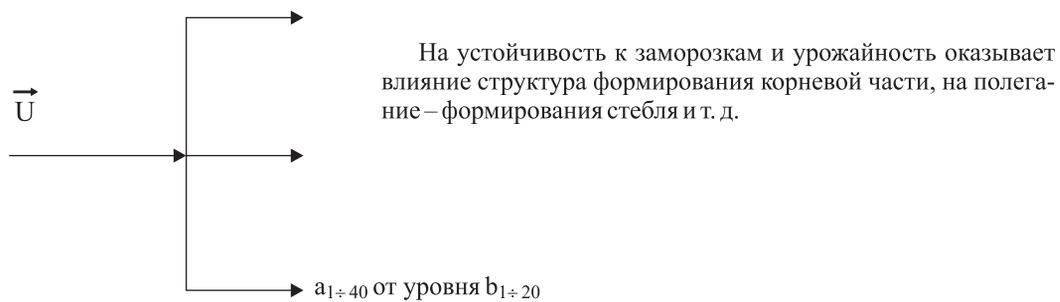
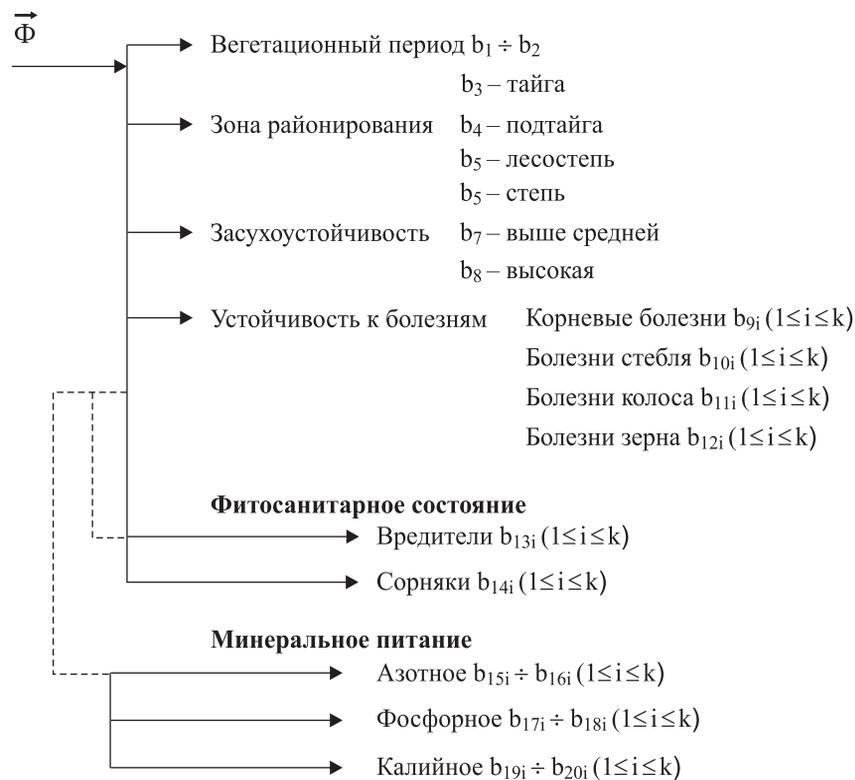
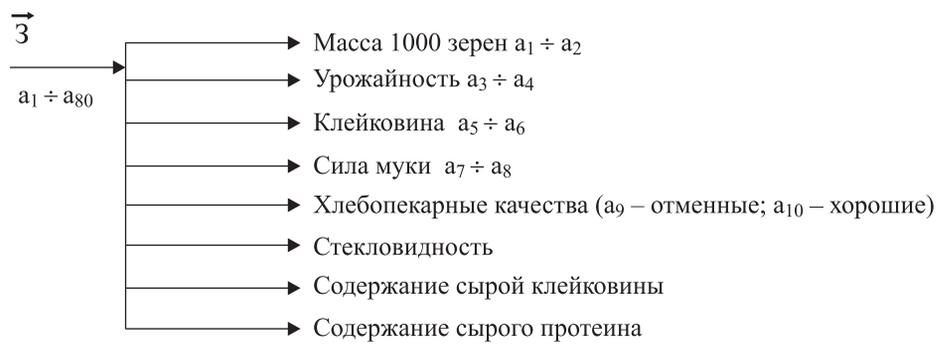
1. \vec{Z} – поток информации о целевой функции, описывающий хозяйственно-биологические свойства растения, размещающейся в XIV разделе описания сорта. Показатели сорта, которые в описании представляются как значение, обозначены символами «а», а те, которые представляются диапазоном, обозначены $a_i \div a_{i+1}$.

2. $\vec{\Phi}$ – поток информации о внешних факторах, который содержит данные о поражении болезнями и повреждении вредителями конкретного сорта, требованиях сорта к условиям внешней среды и агротехнике, об областях и районах, для которых рекомендуется сорт.

Эти данные представляются в XV, XVII и XVIII разделах описания сорта.

3. \vec{U} – поток информации о взаимном влиянии составляющих модели растения (корня, стебля и колоса).

4. \vec{M} – поток информации о состоянии составляющих модели (корня, стебля и колоса), который содержит морфологическое описание сорта, размещенное в XVI разделе. Показатели сорта этого раздела, которые в описании



Диапазоны показателей обозначены $b_i \div b_{i+1}$; $a_i \div a_{i+1}$; $c_i \div c_{i+1}$.

Таблица 1

Мягкая яровая пшеница Новосибирская 89

Автор	Лубнин А.Н.
Организация	СибНИИРС
Год включения в Госреестр	1993
Цель выведения	Скороспелее Новосибирской 67 на 1–2 дня; устойчивость к полеганию выше стандарта; более засухоустойчивая; более высокая устойчивость к болезням; относится к сильной пшенице
Стандарт	Новосибирская 67
Метод создания	Межсортовая гибридизация, двукратный индивидуально-семейственный отбор
Исходный материал	Московская 21 × Саратовская 29
Экологическая группа	Лесостепная, степная
Зона районирования	Уральский, Западно-Сибирский, Восточно-Сибирский регионы
Ботаническая характеристика	
Разновидность	Лютесценс
Форма куста	Прямостоячий
Стебель (толщина, прочность, выполненность соломины)	Средней толщины, полый
Лист (опушение, восковой налет, окраска)	Опушение среднее, слабый восковой налет, окраска пепельно-зеленая
Характеристика сорта по величине листьев в период колошения (широколиственный, промежуточный или узколиственный)	
Колос в период полной спелости (форма, тип, окраска, длина, плотность)	Веретеновидный, белый, средней плотности
Колосковая чешуя в средней трети колоса (размер, форма, нервация, зубец, форма и величина плеча, выраженность килья)	Овально-удлиненная, нервация выражена слабо, зубец короткий, плечо приподнято, среднее, киль выражен сильно
Зерно (крупность по объему, опушенность основания зерна, форма, окраска, характер бороздки)	Среднее по размеру, основание опушенное, полуудлиненной формы, красное, бороздка неглубокая
Другие морфологические признаки сорта	
Биологические особенности	
Вегетационный период, дни	
от всходов до хозяйственной спелости;	Среднеспелый
от посева до полных всходов;	10–13
от полных всходов до начала кущения;	11–12
от кущения до выхода в трубку;	10–11
от выхода в трубку до колошения;	18–21
от полного колошения до хоз. спелости;	29–43
Высота растений, см	75–95
Длина стебля, см	45–55
Продуктивная кустистость, шт.	1,08–1,20
Число зерен в колосе, шт.	24,5–31,0

Продолжение таблицы 1

Остистость (длина и расположение в средней части колоса, характер, окраска остей)	Безостый	
Устойчивость к абиотическим факторам среды		
Полегание, балл (1–9)	7	
Осыпание, балл (1–9)	3	
Прорастание на корню, балл (1–9)	7	
Засуха, балл (1–9)	7	
Поражение болезнями	Конкурсное сортоиспытание	Искусственное заражение
Стеблей и листьев		
Бурая ржавчина, %	35	65/4
Желтая ржавчина, %		
Мучнистая роса, %	0,8	15–25
Колоса		
Пыльная головня, %	0	3,2–44,5
Устойчивость к скрытостеблевым вредителям	Средняя	
Хозяйственные признаки (свойства)		
Урожайность, т/га	3,0–3,5	
Выход зерна, %	74	
Натура зерна, г/л	805	
Масса 1000 зерен, г	27,0–40,3	
Стекловидность, %	82	
Содержание сырой клейковины, %	28,0–40,5	
Содержание сырого протеина, %	15–17	
Показатель альвеографа (W), дж	493	
Валориметрическая оценка, %	64	
Число падения, с	412	
Пористость хлеба, % балл	4,5	
Объемный выход хлеба, мл	495	
Общая оценка качества, балл	4,1	
Требования к агротехнике		
Тип почвы	Выщелоченный чернозем	
Особенности возделывания	Оптимальный срок сева 15–18 мая, отзывчив на предшественники: пар, бобовые, минеральные удобрения. Может дать высокие урожаи при малых нормах посева	
Нормы посева, млн семян/га	5,6–6	
Сроки посева	15–18 мая	
Пригодность к механизированной уборке	Пригоден к механизированной уборке, интенсивным технологиям возделывания, зерно – к промышленной переработке	
Вымолачиваемость зерна, балл	7	
Особенности семеноводства	Предпочтительно использование индивидуально-семейственного отбора вследствие присутствия в сорте двух близких типов растений по степени поникания колоса: слабопоникающие – 45 %, непоникающие – 55 %	

Окончание таблицы 1

Предпочтительные зоны семеноводства	Лесостепь Западной и Восточной Сибири, Северного Казахстана
Недостаток сорта	Затруднен в незначительной мере вымолот зерна по сравнению со стандартом Новосибирская 67
Коммерческая ценность	Более высокая по сравнению со стандартом выживаемость растений к уборке, большее число продуктивных стеблей на 1 м ² , более укороченный вегетационный период. Полевая устойчивость к бурой ржавчине, мучнистой росе, засухе и полеганию. Отличные технологические и хлебопекарные качества зерна
Экономический эффект	По сравнению со стандартом прибавка урожая выше на 0,1–0,7 т/га, содержание клейковины выше стандарта на 2–3 % за счет устойчивости к прорастанию и в валках

представляются как значение показателя, обозначены – c_i , а те, которые представляются как диапазон показателя, обозначены – $c_i \div c_{i+1}$.

Применение информационных технологий предусматривает не только использование ранее известной (исторической) информации (в виде баз данных), но и получение новой (в виде баз знаний) с использованием средств измерения, обработки и управления.

На современном этапе строгая формализация накопленных агрономических знаний затруднена, так как применение методов математики в агротехнике требует глубокого изучения явлений и процессов. Создание модели описания сорта предопределяется исторически сложившейся практикой набора характеристик и показателей, описывающих вид растений. Коллективом под руководством академиков П.Л. Гончарова и Н.А. Сурина разработана структура описаний яровой пшеницы и ячменя.

Как правило, основные агроприемы входят в практику растениеводства ранее, нежели для них будут получены приемлемые математические описания. В данное время отсутствуют математические модели, выражающие вклад совокупности агроприемов в производственный процесс. В соответствии с этим форма представления накопленных агрономических знаний о сортах и технологиях возделывания сельскохозяйственных культур может быть:

- отражающей связи между элементами технологии и условиями;
- единой для всех сельскохозяйственных культур;

- понятной специалистам различных областей знаний и в первую очередь агрономам, экономистам и математикам;

- легко модифицируемой и допускающей возможность перехода на алгоритмические языки современных ЭВМ.

Практическое использование базы данных предопределяет, что пользователь, исходя из своих потребностей, формирует дерево цели (целевую функцию). Формирование целевой функции выбора и поиска нужного сорта, как правило, строится в виде дерева: урожайность – устойчивость к болезням – качество зерна – зона районирования. Дерево целевой функции выбора сорта может быть построено на основе информации, составляющей все пять информационных потоков. При этом порядок, весомость (значимость) того или иного показателя определяются той задачей, которую решает человек, осуществляющий поиск сорта. Учитывая то, что в формализованном виде часть информации в описании сортов отсутствует, построение целевой функции осуществляется человеком или в усеченном виде, или на интуитивном уровне с учетом опыта селекционера, агронома, фермера. Как следствие такого построения дерева цели, решение задачи выбора необходимого сорта (или сортов) становится инвариантно и может быть найдено путем создания баз данных сортов, с одной стороны, и доработки самого описания сорта как по составу параметров, характеризующих сорт, так и по величине (показателю) параметра, с другой стороны. При этом те параметры, которые описываются количест-

венно (масса, урожайность, клейковина и т. д.) и могут быть измерены, должны быть положены в основу назначения средств измерения, обеспечивающих растениеводство, семеноводство и селекцию, а те параметры, которые представляются не в количественном виде, должны иметь формализованное вербальное описание.

Структуру базы данных составляют 5 таблиц, предназначенных для хранения следующих данных (рис. 2):

- признаки сорта (метод создания, исходный материал, экологическая группа, зона районирования, ботанические, биологические и хозяйственно ценные признаки и др.);

- значения признаков, числовые и текстовые (продолжительность вегетационного периода – в днях, урожайность – в т/га, устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам среды – в баллах, ботаническая характеристика – вербальное описание);

- графический материал по каждому сорту (цветные фотографии колоса, зерен и колосковых чешуй);

- таблица соответствия между кодами признаков сорта и кодами значений этих признаков;

- таблица соответствия текстового и графического материала по каждому сорту;

Интерфейс пользователя состоит из 2 основных окон – ввода признаков и результата поиска.

В основу работы интерфейса пользователя программы заложен принцип вложенности признаков в форме «дерева», перемещаясь по

которому проводят набор необходимых для поиска данных, находящихся в базах исходных данных. Поиск сортов по заданным признакам осуществляется следующим образом.

В поле «название признака» выделяют признак. Соответственно в поле «значение признака» появляется перечень значений признака, среди которых выбирается нужное и заносится в поле «набор выбранных признаков». Таким образом, можно сформировать необходимый набор признаков и их значений от 1 до 62 (рис. 3). Поле «набор выбранных признаков» можно корректировать – удалить один либо все выделенные признаки. Текстовые значения признака можно полностью просмотреть с помощью всплывающей подсказки или линейки прокрутки, как вертикальной, так и горизонтальной. К признакам «колос», «колосковые чешуи», «зерно» дополнительно к описательным значениям имеется графический материал.

После того как введены признаки и их значения, запускается алгоритм поиска сорта. Окно результатов поиска представлено на рис. 4.

Поле «название сорта» содержит список сортов, ранжированных по количеству совпадающих признаков. Для любого сорта из списка можно просмотреть все его характеристики. С этой целью в поле «параметры сорта» активизируют любой элемент «дерева». Полная информация по каждому признаку будет появляться в поле «сведения о сорте». Текстовый документ и графический материал можно вывести в формате doc-описания сорта пшеницы на печатающее устройство.

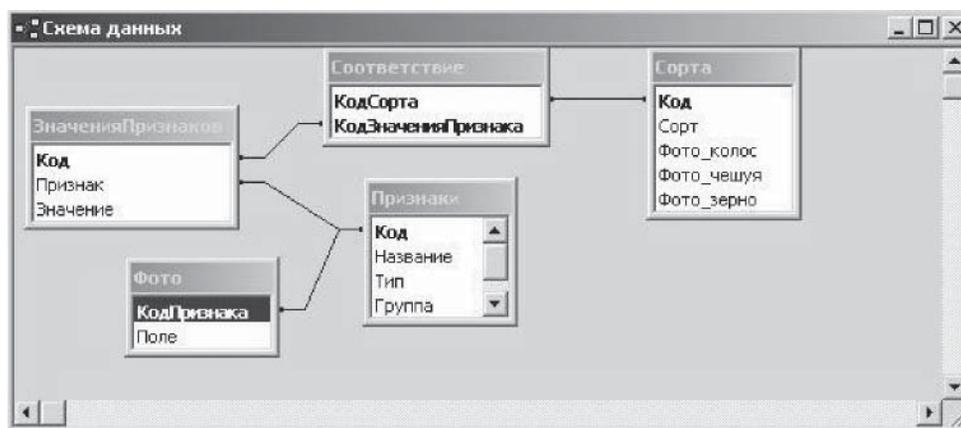


Рис. 2. Общая структурная схема базы исходных данных.

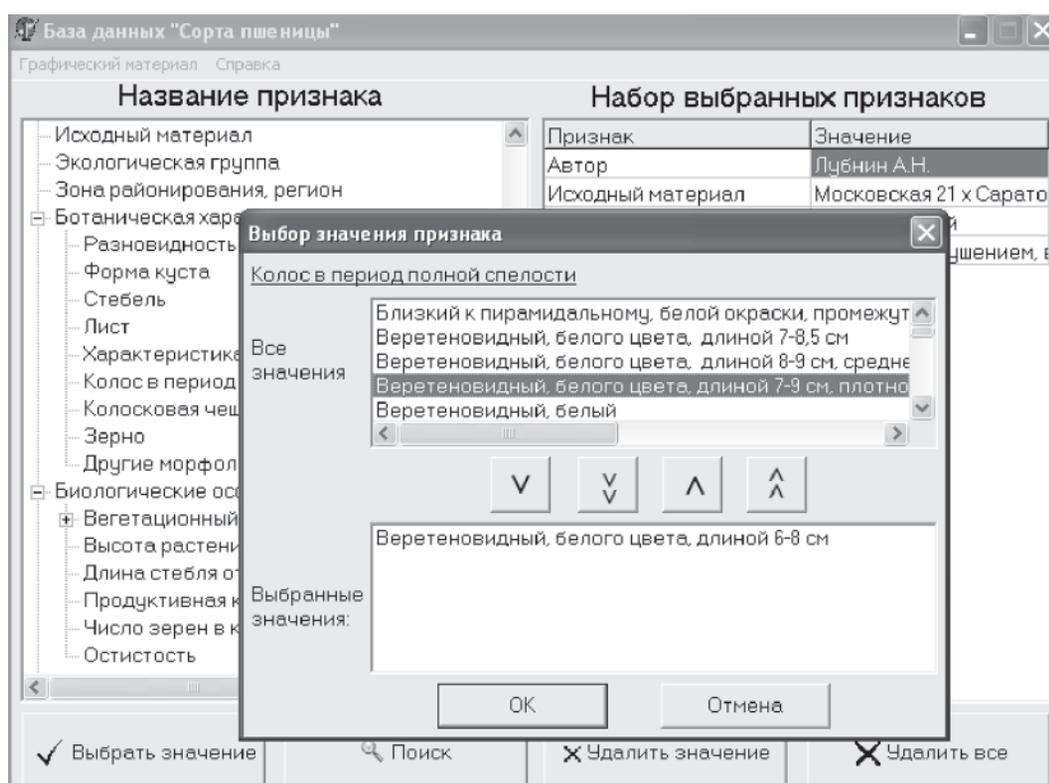


Рис. 3. Выбор признаков.

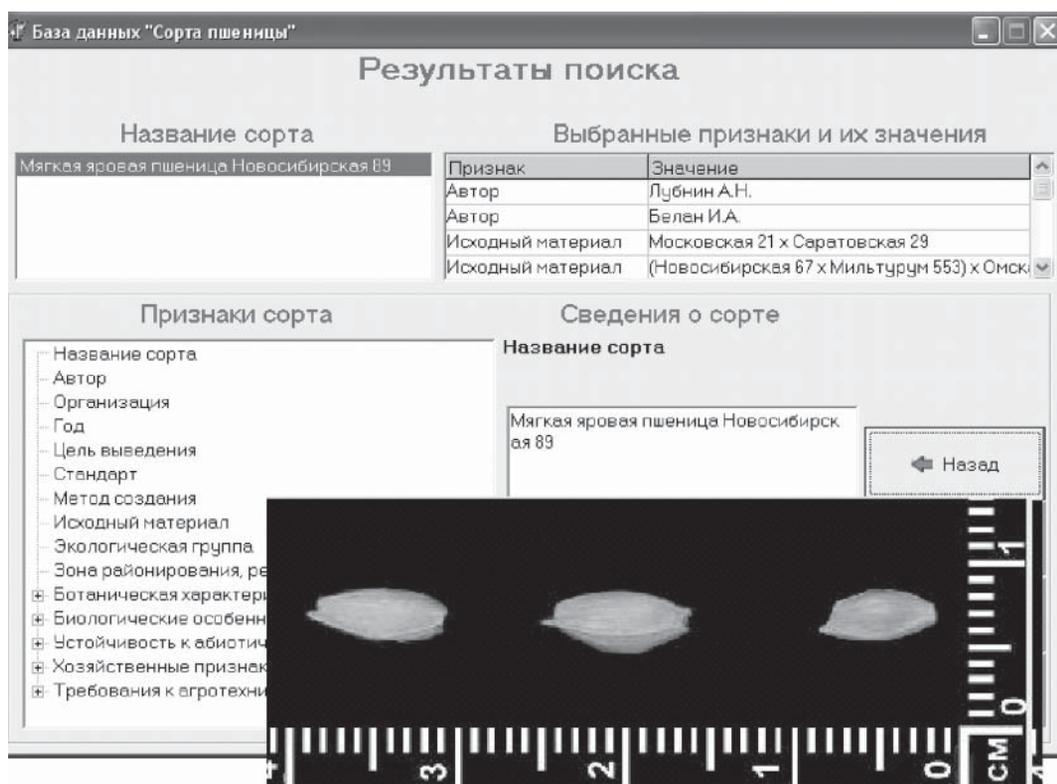


Рис. 4. Вывод результатов поиска.

На данный момент базы данных содержат текстовый и графический материал по 50 сортам пшеницы и 29 сортам ячменя сибирской селекции, включающий комплекс морфологических, ботанических и хозяйственно ценных свойств из 33 наименований (исходные сведения, вегетационный период, урожайность, устойчивость к стрессовым факторам, требования к агротехнике и т. д.). Предполагается дальнейшее их наполнение.

Выводы

1. Базы данных сортов необходимо создавать на основе описаний сортов и информационной модели развития растения.
2. Описание сорта как документ, устанавливающий состав и характеристики параметров сорта, должно быть доработано усилиями селекционеров и инженеров.
3. Поискные базы данных по сортам пшеницы и ячменя сибирской селекции позволят решать задачи по ускорению селекционного процесса и оптимизации выбора наиболее эффективных сортов сельскохозяйственными

товаропроизводителями за счет получения оперативной и разнообразной информации.

4. Важным моментом в развитии технологии растениеводства, который может сыграть определяющую роль в ее результативности, является компьютеризация работы с информацией.

5. Основа современной технологизации – это в первую очередь переход к массовому применению на практике информационных технологий.

Литература

1. Гончаров П.Л. Оптимизация селекционного процесса // Повышение эффективности селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений: Докл. и сообщ. VIII генетико-селекцион. шк. (11–16 нояб. 2001г.). РАСХН. Сиб. отд-ние. СибНИИРС. НГАУ. Новосибирск, 2001. С. 5–16.
2. Альт В.В. Приборное и информационное обеспечение агропромышленного комплекса // Информационные технологии, информационно-измерительные системы в исследовании сельскохозяйственных процессов: Ч. 1: Матер. регион. науч.-практ. конф. «Агроинфо 2000» (Новосибирск, 26–27 октября 2000 г.). РАСХН Сиб. отд-ние. Новосибирск, 2000. С. 32–40.

METHODOLOGY OF FORMING BARLEY AND WHEAT DATABASES

V.V. Alt¹, P.L. Goncharov¹, N.A. Surin²

¹ Siberian Branch of the Russian Academy of Agricultural Science, Novosibirsk oblast, Krasnoobsk, Russia; ² Krasnoyarsk Research Institute of Agricultural Science, Krasnoyarsk, Russia

Summary

Databases of spring cultivars of common wheat and barley produced by Siberian breeders are chosen as an example to consider the methodological aspects of development of crops' databases. The classification of characters, a definition model of the cultivar and software tool to handle relevant data are worked out. Elements of developed barley and wheat databases are enumerated. Databases supposed to be used in research and higher educational institutions specializing in biology and agriculture, in agricultural production and also for crops' biodiversity registration in the region.

КОНЦЕПЦИИ О ПРОИСХОЖДЕНИИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В ИСТОРИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А.В. Ефименко¹, И.К. Захаров^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия, e-mail: tatele@yandex.ru

В статье дается изложение развития взглядов на проблему происхождения культурных растений. Рассматриваются вопросы становления и развития этой проблемы в биологических и исторических исследованиях XIX–XX вв. Отмечается основополагающая роль в формулировании проблемы происхождения культурных растений ученых-биологов второй половины XIX в. Ч. Дарвина и А. Декандоля, чьи эволюционистские представления легли в основу последующих биологических исследований в этом направлении. Подчеркивается роль диффузионистской теории становления и развития культуры общества, развивавшейся в рамках этнографической науки начала XX в. Анализируются взаимовлияние гипотезы происхождения культурной флоры и теории миграции и дискретности человеческой культуры и ее дальнейшее развитие в работах Н.И. Вавилова и других отечественных ученых.

Ключевые слова: А. Декандоль, Н.И. Вавилов, центры происхождения, антропогеоценоз.

...каждый из нас видит разное в зависимости от того, через какой фильтр проходят факты, куда стремится исследователь.

Н.И. Вавилов¹

Видимо, далеко не случайно, что проблема происхождения культурных растений впервые была сформулирована именно в работах ученых второй половины XIX в. И дело даже не в том, что накопленный к этому времени обширный фактический материал о систематике и географии культурной флоры пяти континентов земного шара вполне позволял перейти от эмпирических частных фактов к теоретическому обобщению. Более важным и заслуживающим внимания представляется тот факт, что осмысление и упорядочивание этого разнообразного материала происходили с позиций эволюционизма. Можно даже сказать, что сама постановка проблемы происхождения культурной флоры стала возможной именно благодаря эволюционистской парадигме, определившей вектор всех последующих исследований по этому вопросу.

Эволюционистская картина мира в биологии создавалась на трех основаниях – развитии, изменении и наследовании. Эти три осново-

¹ Вавилов, 1987. С. 20.

полагающих свойства были признаны за всеми без исключения живыми организмами и положены в основу объяснения их видового разнообразия.

В системе таких эволюционистских представлений «культурное растение» как объект исследования рассматривалось прежде всего как биологический организм, обладающий собственной пространственно-временной динамикой и закономерностями развития. Круг вопросов, волновавших исследователей-эволюционистов того времени, можно свести к двум основным пунктам:

1) место и время возникновения культурных растений, пути и направления их последующего распространения;

2) механизм формообразования и изменения культурных растений в процессе воздействия на них человека.

Наиболее полное рассмотрение этих вопросов связано с именами двух известных ученых – Чарльза Дарвина и Альфонса Декандоля.



Альфонс Луи Пьер Пирамю Декандоль (1806–1893). Основоположник учения о происхождении культурных растений.

Швейцарский ботаник А. Декандоль в своей работе «Происхождение культурных растений» (1883), как явствует из самого названия, основной задачей считал установление первоначальной родины отдельных видов культурных растений и их исходных (диких) форм.

Главные выводы исследования Декандоля сводятся к следующему. Во-первых, корни возникновения современных видов культурных растений уходят в глубокую древность. Поскольку зафиксированные в исторических источниках (египетских, месопотамских, китайских и др.) древнейшие факты отражают достаточно развитый уровень возделывания культурных растений, то можно предположить, что ему предшествовал еще более древний этап. Во-вторых, с самого начала своей истории культурные растения подвергались разнонаправленной и интенсивной селекции, гибридизации и интродукции. Поэтому выявление для многих современных культурных растений их предковых диких форм затруднено или вовсе не представляется возможным. В-третьих, возникновение земледелия (целенаправленного возделывания культурных растений ради получения устойчивого урожая) следует приурочить к трем географическим областям земного шара: Юго-Восточной Азии, Юго-Западной Азии и Америке. Исторически

эти области соответствуют древнейшим центрам человеческой цивилизации: Китаю, Индии, Месопотамии, Египту и Перу с Мексикой, причем в Старом Свете они приурочены к речным долинам, а в Новом – к высокогорным районам (De Candolle, 1885. P. 8–17).

Несомненной заслугой А. Декандоля можно считать то, что он первым обратился к разрешению проблемы происхождения культурных растений с позиций комплексной методологии. Языком современной науки это можно было бы назвать междисциплинарным подходом к решению проблемы. Ботанико-географический материал ученый дополнил археологическими, историческими и лингвистическими данными. В результате была не только продемонстрирована сложность и неоднозначность проблемы происхождения культурной флоры, но предложена возможность ее разрешения комплексным методом – на стыке естественных и гуманитарных наук.

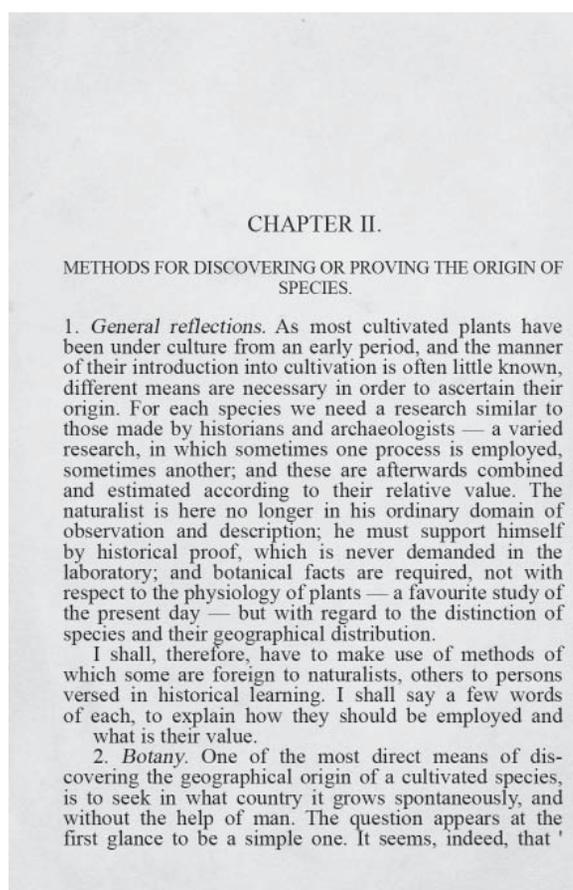
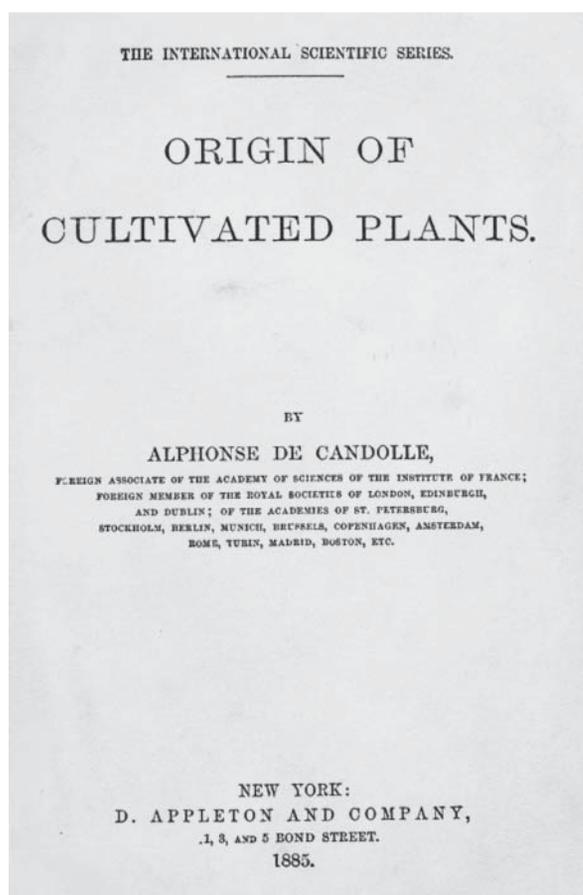
Круг вопросов, связанных с теми изменениями, которые претерпели и претерпевают культурные растения в процессе воздействия на них человека, был рассмотрен в работе Ч. Дарвина «Изменения домашних животных и культурных растений» (1868). Эта работа Дарвина, богатая фактами и обобщениями, содержит следующие важные выводы в отношении культурной флоры: в основе всех изменений культурных растений лежит отбор, производимый исключительно по воле человека, который отбирает формы, наиболее отвечающие его потребностям; процесс этот постепенный и зависит как от внешних условий, так и от внутренней predispositionности самих растений; большинство свойств культурных растений, наиболее ценимых человеком, в естественных условиях обычно слабо выражены и для растения бесполезны и даже вредны (Дарвин, 1951).

Таким образом, во второй половине XIX в. ученые-биологи сформулировали проблему происхождения культурных растений и первыми попытались дать ее решение. Из 247 видов культурных растений, рассмотренных А. Декандолем, 26 не было обнаружено им ни в диком, ни в полудиком состоянии (в том числе такие важнейшие для человечества продовольственные культуры, как пшеница и кукуруза). Это побудило А. Декандоля *a priori* сделать заключение о высокой степени изменчиво-

сти, которую претерпели эти растения в ходе тысячелетней истории культивирования их человеком. Механизм искусственного отбора, предложенный Ч. Дарвином, давал хорошую возможность объяснения столь необратимых изменений. Если принять во внимание климатическое разнообразие Земли в пространстве и во времени, многочисленные миграции в истории человечества и постоянно расширявшиеся торговые связи, то вырисовывается достаточно стройная гипотеза происхождения культурной флоры. А. Декандоль выделил три большие области древнейшей земледельческой культуры: Китай, Юго-Западную Азию (включая Египет) и американские субтропики (Перу и Мексика). Отсюда, по его мнению, и получили свое распространение основные виды культурных растений, давшие в последующем то поразительное сортовое разнообразие, которым человечество пользуется и по сей день.

Как уже отмечалось, в своей работе А. Декандоль достаточно широко привлекал исторический материал: письменные свидетельства, археологические и этнографические данные, лингвистические источники. Он даже уподоблял историю культурных растений истории народов в том смысле, что в обоих случаях приходится апеллировать к самым различным источникам (De Candolle, 1885. P. 27). Но А. Декандоль отразил видение проблемы как представитель биологических наук. В науках же исторического цикла проблема происхождения культурной флоры имела несколько иную судьбу.

Эволюционистская парадигма завоевала в исторических науках второй половины XIX в. не менее прочное положение, чем в науках естественных. Это нашло свое отражение в первую очередь в построении различных эволюционистских схем развития общества и человечества в целом. Наиболее последовательно эволюционистское



Титульный лист американского издания работы А. Декандоля «Происхождение культурных растений», 1885 г. и начальная страница главы «Методы обнаружения или доказательства происхождения видов». Русский перевод этой книги вышел в том же 1885 г. под названием «Местопроисхождение возделываемых растений».

направление развивали представители этнографии и археологии: Мак-Леннан, Дж. Лёббок, Л.Г. Морган, Ю. Липперт и др. (Токарев, 1978).

Одним из важнейших пунктов на шкале развития человеческого общества в эволюционистских построениях этих ученых являлся момент возникновения земледелия, с которым справедливо связывался качественный переход в истории человечества, определивший все последующее развитие цивилизации. Именно в этом контексте проблема происхождения культурной флоры и отразилась в исторических исследованиях того времени. Следует подчеркнуть ее своеобразие, которое заключалось в том, что она оказалась растворена в более широкой проблеме возникновения земледелия. При этом большее внимание уделялось именно социально-экономической составляющей, нежели биологической. Разновидности пшеницы, проса или ячменя не считались определяющим фактором в решении вопроса о происхождении земледелия. Заслуживали внимания лишь сам факт обработки земли с целью получения урожая и как следствие последующее экономическое и социальное развитие общества.

Это не значит, что из внимания историков совсем выпал перечень видов и разновидностей культурных растений. Напротив, данные этнографии, которыми в основе своей оперировали ученые, предоставляли богатейший каталог растений, которые народы различных географических районов и разного уровня культурного развития использовали для своих нужд. Обилие и разнообразие такого этнографического материала давало повод считать проблему достаточно легко решаемой. Немецкий этнограф Ю. Липперт прямо заявлял, что «... вопрос о том, как человек додумался до того, чтобы бросать в землю часть собранных им семян ради обеспечения себя полезными растениями, не представляется затруднительным» (Липперт, 1902. С. 23).

Согласно классической трехстадиальной схеме эволюции человеческого общества земледелие развивалось на основе скотоводства, которому предшествовали охота и собирательство. Этот процесс был имманентным и в разных частях земного шара совершался на основе имеющихся доступных растительных ресурсов. Там, где этих ресурсов было более чем достаточно, происходил качественный пе-

реход к высокоразвитым обществам на основе земледельческой культуры, как в Египте, Месопотамии, Китае или Мезоамерике. Конечно, подобная схема была во многом умозрительной. Этнографические материалы подтверждали ее лишь косвенным образом. Археологических же данных в то время было еще не достаточно.

В таком состоянии проблема происхождения культурных растений, а равно и проблема происхождения земледелия пребывали до начала XX в. К этому времени классические эволюционистские построения переживали определенный кризис. Причем этот процесс происходил параллельно как в биологии, так и в исторических науках. Кризис стимулировал появление исследовательских альтернатив прежним представлениям. В биологии это было связано с перераскрытием законов Г. Менделя – зарождением и развитием генетики, в исторических науках – с возникновением диффузионистского направления в этнографических исследованиях.

В отличие от прежних эволюционистских представлений в этнографии диффузионизм выдвигал на первое место и подчеркивал роль миграций и заимствований, а не внутреннее поступательное развитие культуры. Так, считалось, что возникновение земледелия было одномоментным актом и могло произойти лишь в очень немногих единичных центрах. Таковыми признавались либо Египет, либо Юго-Восточная Азия. Отсюда земледелие путем миграции и культурного заимствования распространилось в дальнейшем и в другие области.

Несмотря на целый ряд положений, подвергшихся в свое время обоснованной критике (например, механистическое понимание культурных явлений), диффузионизм привнес определенный динамизм в понимание развития культурных процессов, в том числе и в вопрос возникновения земледелия. Факты миграций и взаимного влияния культур были слишком очевидны, чтобы их отрицать. Кроме того, стоявший у истоков диффузионизма Ф. Ратцель показал тесную связь человеческой культуры с географической средой и местообитанием (Ратцель, 1903). Это также обогатило проблему происхождения земледелия конкретным содержанием, усилив ее естественнонаучную составляющую.

Примечательно, что о роли миграции и заимствования в распространении культурной

флоры писал еще А. Декандоль. Таким образом, подобные идеи имели уже достаточно устойчивую традицию и в естественнонаучной среде. Поэтому далеко не случайно, что биологи, занимавшиеся проблемой возникновения культурных растений и домашних животных, с готовностью воспринимали основные положения диффузионизма (Davenport, 1910).

В целом можно говорить о том, что тема происхождения культурных растений и тесно сопряженная с ней проблема одомашнивания животных переживали в первые десятилетия XX в. период повышенного интереса. Прежние теоретические построения не выдерживали напора новых фактов, явившихся следствием развития новых методов и направлений исследований. Палеоботанические и палеозоологические находки в Европе и Азии позволили значительно конкретизировать прежние, во многом умозрительные, схемы. Иных интерпретаций требовали и новые археологические открытия. Нужен был прорыв. Такой прорыв происходит в 1920-е гг. и связан с многочисленными работами по этой проблеме Н.И. Вавилова.

Теория о центрах происхождения культурных растений по общему признанию является наиболее яркой страницей научного наследия Н.И. Вавилова. В разработке этой концепции он проявил свою широкую эрудицию и творческий потенциал, смелость и оригинальность мысли. Главные выводы его концепции – о дискретности и полицентричности процесса образования культурной флоры и приуроченности этого процесса к определенным географическим (горным) районам – сохраняют свою научную значимость как в ботанических, так и в исторических исследованиях до настоящего времени (Гончаров, 2007; Шумный, 2007).

Тем не менее при оценке теоретических положений Н.И. Вавилова необходимо учитывать, что он подошел к решению проблемы в первую очередь с позиции ботаника-селекционера, для которого главной целью являлось выявление видового и сортового разнообразия культурной флоры, первичная географическая локализация этого разнообразия и выяснение возможностей его интродукции в новых условиях. Достижения его в этом направлении и в смежных с ним областях биологии несомненны (Жуковский, 1964). В частности, ему удалось продемон-

стрировать сложный процесс эволюции многих культурных растений, связанный с целым комплексом внутренних и внешних причин.

Исторический метод, предложенный в свое время А. Декандром, занимал в работах Н.И. Вавилова подчиненное место. Вместе с тем из работ Н.И. Вавилова явствует его достаточно широкое знакомство с археологической и этнографической литературой того времени, что позволяло ему оперировать вполне конкретными фактами и выдвигать достаточно смелые предположения².

Н.И. Вавилов почти не касается вопроса о механизме перехода к земледелию, ограничиваясь лишь некоторыми замечаниями на этот счет: локализация первичных очагов земледелия в изолированных горных районах, неполивной характер раннего земледелия, вытеснение «первичных» растений «вторичными» по мере их продвижения с юга на север и в горные районы. В центре его внимания как ботаника остается изучение совсем другого механизма – эволюции самого растения в процессе его введения в культуру. Поэтому главный исторический вывод концепции Н.И. Вавилова выглядит основанным скорее на интуитивной догадке, нежели на прямых данных: «... выделенные семь крупных центров соответствуют локализации древнейших земледельческих культур» (Вавилов, 1987. С. 394).

В отечественных исторических науках – археологии и этнографии – судьба теоретических взглядов Н.И. Вавилова на происхождение культурных растений первоначально складывалась достаточно сложно. Казалось бы, что новая оригинальная трактовка проблемы происхождения культурных растений, напрямую связанная с ключевыми вопросами развития человеческого общества, должна была привлечь внимание представителей именно этих наук. Тем не менее, насколько можно судить по библиографическим обзорам научного наследия Н.И. Вавилова, единственным прижизненным откликом на идеи ученого со стороны археологов и этнографов была статья научного сотрудника Государственной академии истории материальной

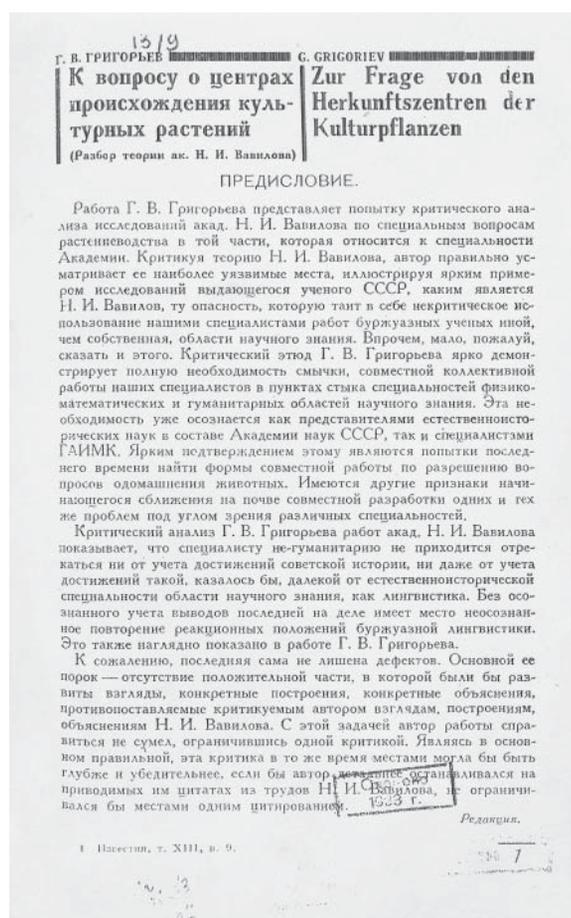
² На начальном этапе Н.И. Вавилов, видимо, сам рассматривал многие выдвигаемые им положения как не укладывающиеся в общепринятую схему. Так, в письме Д.Л. Рудзинскому от 15 марта 1924 г. он пишет об окончании работы «О происхождении культурных растений»: «... В ней много ересей, в которых, правда, я сам убежден» (Н.И. Вавилов. Научное наследие в письмах. Т. I. С. 109).

культуры³ Г.В. Григорьева, опубликованная в 1932 г. (Григорьев, 1932). Эта статья носила подчеркнuto критичный характер и содержала разбор концепции Н.И. Вавилова больше с идеологических, нежели конструктивных позиций. Главным недостатком работ Н.И. Вавилова, по мнению Г.В. Григорьева, являлось то, что они написаны в духе миграционистских (диффузионистских) теорий индоевропейской лингвистической школы. В то время это было равносильно обвинению в расизме и шовинизме (Формозов, 2006). Насколько этот «первый камень» повлиял на последующую судьбу Н.И. Вавилова, сказать трудно, так же, как нам не известна и его реакция на эту статью. Тем не менее Н.И. Вавилов и после этого продолжал развивать и совершенствовать свою концепцию.

Представления Н.И. Вавилова о происхождении культурных растений были «реанимированы» в работах отечественных ботанико-географов Н.А. Базилевской, П.М. Жуковского, А.И. Купцова и Е.Н. Синской. В рамках темы данной статьи важно отметить, что Е.Н. Синская в своей книге в наибольшей степени продемонстрировала комплексное видение проблемы, очень широко привлекая археологический материал. В настоящее время основные положения Н.И. Вавилова в отношении генезиса культурной флоры (иногда в полном объеме, иногда с некоторыми корректировками) принимаются подавляющим большинством отечественных ботанико-географов (Базилевская, 1960; Жуковский, 1964, 1970; Синская, 1969; Купцов, 1975; Гончаров, 2007; Шумный, 2007).

Новый этап в судьбе вавиловского научного наследия в исторических дисциплинах наступает в 1960-е гг. С этого времени концепция Н.И. Вавилова о центрах происхождения культурных растений прочно закрепилась в работах, посвященных проблеме возникновения земледелия и, в более широком смысле, становления производящего хозяйства. Наиболее детально она рассмотрена в работах В.А. Шнирельмана, Б.В. Андрианова и В.П. Алексева. Основное внимание этих исследователей было обращено непосредственно к рассмотрению вопроса о локализации предложенных Н.И. Вавиловым

³ Государственная академия истории материальной культуры – ГАИМК – впоследствии была преобразована в Институт археологии АН СССР.



Первая страница работы археолога Г.В. Григорьева, посвященной критическому разбору теории Н.И. Вавилова о центрах происхождения культурных растений. Видимо, редакторы посчитали недостаточным критические замечания самого Г.В. Григорьева и сопроводили его статью редакционным (анонимным) введением, в котором недвусмысленно выразили негативную позицию советской исторической науки к теоретическим положениям Н.И. Вавилова.

центров происхождения культурной флоры и к установлению количества этих центров. Как известно, сам Н.И. Вавилов в своих работах выделял от 5 до 9 таких центров (локусов, очагов, по его собственной терминологии). При этом он исходил из интерпретации имеющегося в его распоряжении исключительно ботанического материала, не имея возможности опереться в своих построениях на довольно скудные в то время археологические данные. Лишь спустя несколько десятилетий после исследований Н.И. Вавилова положения его концепции стало возможным соотнести с результатами массовых археологических раскопок из самых разных районов земного

шара. В результате вавилонская схема первичных очагов формообразования претерпела некоторые количественные изменения.

Так, В.П. Алексеев предполагал наличие не менее пяти таких очагов (три – в Евразии и по одному в Африке и Америке). Б.В. Андрианов предложил схему, состоящую из десяти очагов. У В.А. Шнирельмана количество очагов возросло до двадцати двух с подразделением их на первичные и вторичные (Андрианов, 1978; Алексеев, 1984; Шнирельман, 1989). В целом, по словам В.А. Шнирельмана, проблема локализации древнейших земледельческих очагов в настоящее время может считаться решенной: «В будущем предстоит уточнить границы некоторых очагов и их хронологию, большого внимания потребует вопрос о взаимоотношениях между отдельными очагами и путями распространения некоторых видов культурных растений и домашних животных» (Шнирельман, 1989. С. 315).

Следует обратить внимание на изменение самого названия вавилонских очагов в работах специалистов-историков. Вместо применяемого Н.И. Вавиловым названия «центр происхождения культурных растений» сейчас наиболее употребительными в исторической литературе являются «центр возникновения земледелия» либо «очаг производящего хозяйства», что, несомненно, является более правильным и точнее отражающим суть проблемы.

Дело в том, что для Н.И. Вавилова отправной точкой являлось определение центров разнообразия (или мест максимальной концентрации видового и сортового разнообразия) культурных растений. Это определение производилось исключительно на современном ему материале. И хотя в предложенном им дифференциальном ботанико-географическом методе исследования видов культурных растений специально оговаривалась необходимость «... в определении ареалов этих видов, по возможности в отдаленное время, когда сообщение было более затрудненным, чем в настоящее время...» (Вавилов, 1987. С. 43), развития этот методический подход в последующих его работах не получил. То есть исторический (хронологический) фактор в развитии культурных растений почти не учитывался. Как следствие полученные Н.И. Вавиловым современные данные напрямую экстраполировались в прошлое, а выявленные цент-

ры формообразования культурных растений *a priori* рассматривались как первичные центры земледельческих культур. Последующие исследования по этому вопросу показали, что все обстояло несколько сложнее.

Уже упомянутый характер изменения терминологии в работах современных ученых говорит о постепенном смещении акцентов исследования от ботанического (естественнонаучного) к археолого-этнографическому (историческому). Поскольку появилась возможность проверки и соотнесения ботанико-географического материала с данными археологии и этнографии, обнаружился весьма сложный и неоднозначный механизм перехода человеческих коллективов к земледелию.

Хотя В.А. Шнирельман и указал на то, что вопрос о географической локализации очагов может в основном считаться решенным, вместе с тем в своей работе он привел множество оговорок, касающихся весьма существенных моментов. Это неполная ясность и в вопросе о взаимоотношениях между отдельными очагами, и о путях и способах распространения отдельных видов домашних растений и животных, и в отсутствии детальных представлений о формах древнейшего хозяйства. Но самое главное – это вопрос о механизмах одомашнивания растений и животных, который до сих пор остается наиболее спорным и наименее изученным. Таким образом, старая проблема обрастает новыми гранями, а углубление и расширение наших знаний в этой области ставит все новые и новые вопросы.

Попытку творческого развития теоретических положений Н.И. Вавилова предпринял В.П. Алексеев. Он удачно применил выводы Н.И. Вавилова о рецессивности/доминантности генов, о гомологических рядах к антропологическому материалу, продемонстрировав тем самым их научную состоятельность в смежных биологических дисциплинах.

По вопросу о происхождении культурных растений и возникновении земледелия В.П. Алексеев сделал прекрасный аналитический обзор вавилонской гипотезы и стоял на пороге нового теоретического прорыва в этом направлении. Как уже отмечалось выше, камнем преткновения современных представлений в проблеме зарождения земледелия является вопрос о механизмах этого процесса. Несомнен-

но, что решение этого вопроса будет связано с установлением более детальных связей, существующих между человеком, географической средой и растением. Именно такие связи были рассмотрены В.П. Алексеевым в его теории антропогеоценозов, причем в достаточно целостном и системном объеме (Алексеев, 1975). Теория антропогеоценозов – сложное междисциплинарное обобщение и, наверное, именно поэтому не понятое и подвергшееся жесткой критике с позиций догматического марксизма, господствовавшего в советской науке (Буровский, 1994. С. 6). Представляется, что будущие исследования в этом направлении докажут научную состоятельность этой теории.

Литература

- Алексеев В.П. Антропогеоценозы: сущность, типология, динамика // *Природа*. 1975. № 7. С. 18–23.
- Алексеев В.П. Становление человечества. М.: Изд-во полит. лит-ры. 1984. 464 с.
- Андрианов Б.В. Земледелие наших предков. М.: Наука, 1978. 168 с.
- Базилевская Н.А. Центры происхождения декоративных растений // *Вопросы эволюции, биогеографии, генетики, селекции*. М.; Л., 1960.
- Буровский А.М. Антропоэкология (концепция антропогеосферы: ее сущности, морфологии, структуры, динамики, истории). Красноярск, 1994. 216 с.
- Вавилов Н.И. Пять континентов. Л.: Наука, 1987. 213 с.
- Вавилов Н.И. Происхождение и география культурных растений. Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1987. 440 с.
- Гончаров Н.П. Центры происхождения культурных растений // *Информ. вестник ВОГиС*. 2007. Т. 11. № 3/4. С. 561–574.
- Григорьев Г.В. К вопросу о центрах происхождения культурных растений (Разбор теории акад. Н.И. Вавилова). Л.: ОГИЗ, 1932. 32 с. (*Известия Государственной Академии истории материальной культуры*. Т. 13. Вып. 9.).
- Дарвин Ч. Изменения домашних животных и культурных растений. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. 884 с.
- Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Систематика, география, цитогенетика, экология, происхождение, использование. 2-е изд., перераб. и доп. Л.: Колос, 1964. 792 с.
- Жуковский П.М. Мировой генофонд растений для селекции. Мегагенцентры и эндемичные микрогенцентры. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1970. 88 с.
- Купцов А.И. Введение в географию культурных растений. М.: Наука, 1975. 295 с.
- Липперт Ю. История культуры в отдельных очерках. С.-Петербург, 1902. 452 с.
- Ратцель Ф. Народоведение. Т. 1. С.-Петербург, 1903. XX, 764 с.
- Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры (На заре земледелия). Л.: Колос, 1969. 480 с.
- Токарев С.А. История зарубежной этнографии. М.: Высш. шк., 1978. 352 с.
- Формозов А.А. Русские археологи в период тоталитаризма. Исторические очерки. М.: Знак, 2006. 320 с.
- Шнирельман В.А. Возникновение производящего хозяйства. М.: Наука, 1989. 448 с.
- Шумный В.К. Два гениальных обобщения Николая Ивановича Вавилова (К 120-летию со дня рождения) // *Генетика*. 2007. Т. 43. № 11. С. 1447–1453.
- Davenport E. *Domesticated Animals and Plants. A Brief Treatise upon the Origin and Development of Domesticated Races with Special Reference to the Methods of Improvement*. Boston a.o.: Ginn and Company, 1910. 321 p.
- De Candolle A. *Origin of Cultivated Plants*. N.Y.: D. Appleton and Company, 1885. 468 p.

CONCEPTS OF CULTIVATED PLANTS' ORIGIN IN HISTORICAL STUDIES

A.V. Efimenko¹, I.K. Zakharov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia; ² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia, e-mail: tatek@yandex.ru

The paper recapitulates the evolution of views on cultivated plants' origin as they emerged in biological and historical studies of XIX–XX centuries. The authors entrust the formulation of problem of cultivated plants' origin to the central figures of 19th century biology, Charles Darwin and Alfonse de Candolle. This laid the evolutionary perspective to the future biological research in this field. The role of diffusionist theory of the establishment and development of social cultures is underscored. The feedbacks between the hypothesis of the origin of cultivated plants and the theory of migration and discontinuity of human culture in the course of their emergence and further development in the works of N.I. Vavilov and the Russian school are analysed.

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СУБЪЕДИНИЦЫ ГЛЮТЕНИНА У ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦ – ДОНОРОВ ИММУНИТЕТА К ГРИБНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Л.В. Обухова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail:entin@isp.nsc.ru

Исследованы запасные белки – высокомолекулярные субъединицы глютенина (ВМСГ) у 5 образцов *Triticaceae* из коллекций сотрудников Института цитологии и генетики СО РАН (*Triticum timopheevi* Zhuk., *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl., амфиплоид доктора Савова (*Triticum timopheevi* Zhuk. × *Triticum tauschii* (Cosson) Schmal.), часть из которых была использована при создании новых иммунных форм мягкой пшеницы. Для родительских форм – доноров иммунитета к грибным инфекциям – сделан прогноз хлебопекарного качества со стороны ВМСГ, а также зафиксированы аллельные состояния Glu-1 локусов как маркеры первой группы хромосом.

Ключевые слова: пшеницы-доноры, иммунитет, глютенины, оценка качества.

Посвящается светлой памяти
Майстренко Ольги Ивановны

Введение

Мировое разнообразие растений сохраняется в центрах генетических ресурсов растений и генных банках и является одним из основных источников улучшения сельскохозяйственных культур. Образцы из этих коллекций используются исследователями для создания новых форм. Так возникают авторские коллекции из новых форм и их родителей. Информация о свойствах родительских образцов не всегда доступна, так как она рассредоточена по статьям, подчас остается в рабочих журналах, а иногда теряется.

При создании новых форм пшениц на современном этапе необходимо иметь информацию о генетически детерминированных биохимических показателях, определяющих хлебопекарное качество. Знание этих параметров позволяет сопоставить возможности отечественных и зарубежных коллекций при выборе доноров.

В Институте цитологии и генетики СО РАН были созданы интрогрессивные формы мягкой пшеницы с высоким уровнем устойчивости к грибным инфекциям. В гибридизации участвовали коммерческие сорта мягкой пшеницы с

низким иммунитетом и образцы-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине, мучнистой росе и другим болезням: *T. timopheevi* Zhuk., *T. dicoccum* (Schrank) Schuebl. и амфиплоид *T. timopheevi* × *T. tauschii* (синтетическая пшеница доктора М. Савова).

Большая коллекция так называемых вторичных доноров устойчивости, интрогрессивных линий *T. aestivum* L. (ТА), несущих устойчивость к листовой ржавчине от *T. timopheevi* Zhuk., была создана Е.Б. Будашкиной и Н.П. Калининной (1998). В другой коллекции, работа над которой была начата под руководством О.И. Майстренко (Maystrenko *et al.*, 1996) и продолжена ее коллегами Л.И. Лайковой, В.С. Арбузовой, Т.Т. Ефремовой и О.М. Поповой (Лайкова и др., 2004), донором иммунитета был амфиплоид (*T. timopheevi* × *T. tauschii*), созданный М. Савовым (Болгария).

Новая форма мягкой пшеницы Гибрид 21, полученная с участием *T. dicoccum*, была создана Е.Б. Будашкиной в соавторстве с М.Х. Коробейниковой (Будашкина, 1975). Гибрид 21 обладает комплексной устойчивостью к грибным инфекциям (Будашкина, 1975) и отличными

хлебопекарными качествами (Будашкина, 1975; Обухова и др., 2004).

У пшениц-доноров иммунитета к инфекциям теоретический и практический интерес представляют и другие хозяйственно важные признаки, в частности хлебопекарное качество (ХПК), которое на 47–60 % определяется запасными белками – высокомолекулярными субъединицами глютеина (Payne *et al.*, 1987), гены которых локализованы в длинных плечах 1A, 1B и 1D хромосом, образуя локусы Glu-A1, Glu-B1 и Glu-D1 (Payne, Lawrence, 1983). Каждой субъединице или парной (кодминантно наследуемой) комбинации субъединиц присвоен балл качества. Суммируя эти баллы, можно оценить вклад, вносимый ВМС-глютеиновой фракцией в качество хлеба (Payne *et al.*, 1987; Lukow *et al.*, 1989).

В настоящей работе были исследованы запасные белки, высокомолекулярные субъединицы глютеина у образцов *Triticum*, которые использовались в ИЦиГ СО РАН при создании новых форм мягкой пшеницы, а также перспективных форм для использования в дальнейшем. Целями работы были: 1) паспортизация образцов, определение аллельных состояний Glu-1 локусов, выявление полиморфизма и гетерозигот по этому признаку; 2) поиск образцов с активными *Lsu*-генами; 3) прогнозирование ХПК на основе качества Glu-1 оценок; 4) фиксация аллельных состояний Glu-1 локусов как надежных и испытанных маркеров первой группы хромосом.

Материалы и методы

Эндемичный вид *Triticum timopheevi* var. *viticulosum* ($2n = 28$, геномы GGA^tA^t) был предоставлен Е.Б. Будашкиной. Образец *T. dicoccum* var. *farrum* ($2n = 28$, геномы ВВАА), происходивший из коллекции ВИР 1969 и 1970 гг. репродукции и утративший всхожесть без деструкции глютеинов, был предоставлен М.Ф. Ермаковой. В работе исследованы также два образца *T. dicoccum* (№ 7647, коллекция 2 и образец О.М. Майстренко), предоставленные Н.П. Гончаровым. Синтетическая пшеница (*Triticum timopheevi* × *Triticum tauschii*), созданная доктором М. Савовым (Болгария) ($2n = 42$, геномы GGA^tA^tDD), была предоставлена Л.И. Лайковой (№ 994 ее коллекции).

Высокомолекулярные субъединицы глютеина выделяли и анализировали одномерным электрофорезом в SDS-PAGE по Обуховой с соавт. (Обухова и др., 1997). Белки выделяли из индивидуальных зерновок (в случае образца *T. timopheevi* дополнительно из образца муки весом 55 граммов (Обухова и др., 2008)). Электрофореграммы обрабатывали компьютерной программой GelPro Analyzer 4.0. Молекулярную массу (Mr) субъединиц глютеина определяли по G. Galili и M. Feldman (1983) с помощью маркерного сорта. Для этого нами была проведена калибровка ВМС-глютеинов маркерных сортов с использованием НМВ-набора белков фирмы Bio Rad. При интерпретации электрофореграмм использовали литературные сведения по аллельным состояниям глютеинкодирующих локусов (Glu-1) (Payne, Lawrence, 1983; Обухова и др., в печати; Vallega, Waines, 1987; Branlard *et al.*, 1989; Morgunov *et al.*, 1993; Piergiovanni, Blanco, 1999; Pfluger *et al.*, 2001). Качество Glu-1 в баллах оценивали по О. Lukow с соавт. (Lukow *et al.*, 1989) (табл. 1).

Результаты и обсуждение

Все полученные результаты приведены в табл. 2. Денситограмма *T. timopheevi* представлена на рисунке. В образце *T. timopheevi* не был

Таблица 1

Показатели качества для отдельных субъединиц глютеина или их пар по: Lukow *et al.*, 1989

Оценка	Локус		
	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1
	Высокомолекулярные субъединицы глютеина		
4	–	–	5+10
3	1	17+18	–
3	2*	7+8	–
3	–	13+16	–
2	–	7+9	2+12
2	–	–	3+12
1	null	7	4+12
1	–	6+8	–
1	–	20	–

Таблица 2

Субъединицы – продукты глютенинкодирующих локусов Glu-1
и оценка Glu-1 качества (в баллах) у образцов пшениц из разных коллекций

Образец	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Glu-1- балл
<i>T. timopheevi</i> (Е.Б. Будашкина)	Mr* (103; 92,3; 67,3)	Mr*(107; 100)	–	?+?
<i>T. dicoccum</i> (М.Ф. Ермакова)	2*	(6+8)+(17+18)	–	3+1 3+3
<i>T. dicoccum</i>	2*	(6+8)	–	3+1
<i>T. dicoccum</i>	2**	(13+16)+(7+8) [#]	–	?+3
Н.П. Гончаров (№ 7647 кол. 2)				
(<i>T. timopheevi</i> × <i>T. tauschii</i>)	null	Mr*(107; 100)	1,5+T2	1+?+ ?
Л.И. Лайкова (№ 994)				

Примечание. Mr* – субъединицы представлены в виде молекулярных масс в kDa, полученных нами (см. Материалы и методы); [#] – слабая экспрессия субъединиц (7+8) локусом Glu-B1, что указывает на гетерозиготное состояние локуса Glu-B1(f+b). Glu-1 балл качества складывается из суммы оценок Glu-A1 + Glu-B1 + Glu-D1 (см. Материалы и методы). «?» – качество Glu-1 аллельных состояний не известно. «–» – D-геном отсутствует.

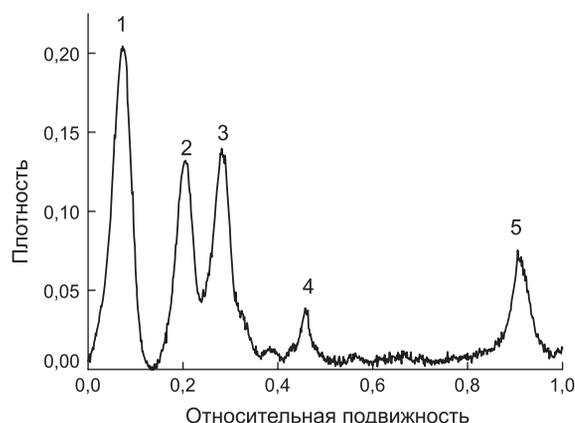


Рис. Денситограмма *T. timopheevi* получена из электрофореграммы ВМСГ-глутенина в SDS-PAGE. Локус Glu-A¹ контролирует протеины NN 2 (103 kDa), 4 (92,3 kDa) и 5 (67,3 kDa). Glu-G1 контролирует протеины NN 1 (107 kDa) и 3 (100 kDa).

обнаружен полиморфизм среди высоко- и низкомолекулярных субъединиц глютенина. Образец *T. timopheevi* экспрессирует пять ВМСГ. Аллельное состояние локуса Glu-G1 представлено двумя продуктами генов *IGx* и *IGy* с Mr 107 и 100 kDa соответственно. Glu-A¹ локус экспрессирует три продукта с Mr 103, 92,3 и 67,3 kDa (Обухова и др., в печати). Как известно, *T. timopheevi* имеет хорошее качество хлеба (Дорофеев и др., 1987). Это можно объяснить тем, что все гены, кодирующие ВМСГ, активно работают. В то время как в коммерческих сортах мягкой пшеницы *IAy*-ген всегда «молчит»,

могут также «молчать» гены *IAx* и *IBy* (Payne, Lawrence, 1983). Образец *T. timopheevi* потенциально может быть хорошим донором генов ВМСГ, включая *IAy*-ген.

Образец *T. dicoccum* участвовал в создании новой формы мягкой пшеницы Гибрид 21. Эта пшеница имеет, кроме комплексной устойчивости к грибным инфекциям (Будашкина, 1975), отличные свойства зерна и муки (Будашкина, 1975; Обухова и др., 2004). Анализ ВМСГ у образца *T. dicoccum* выявил слабый полиморфизм по этому признаку. Было исследовано 215 зерновок, и только две из них имели генотип локуса Glu-B1i, определяющий наличие у них субъединиц (17+18), как и у Гибрида 21. Все другие зерновки имели аллельное состояние локуса Glu-B1d, контролирующее субъединицы (6+8). Качество Glu-B1, ранжированное ранее в балльной системе (Lukow *et al.*, 1989) (табл. 1), у субъединиц (17+18) выше, чем у субъединиц (6+8). Такое аллельное состояние локуса Glu-B1i (17+18) среди сортов мягкой пшеницы советской и российской селекции встречается редко (3 %) (Morgunov *et al.*, 1993), тогда как в сортах Аргентины и Австралии частота этого аллеля составляет 30 % (Morgunov *et al.*, 1993). Все зерновки *T. dicoccum* имели субъединицу 2*, аллель *Glu-A1b*, который имеет высокий балл по Glu-1 оценке (Lukow *et al.*, 1989) (табл. 1).

Ранее авторы работ (Vallega, Waines, 1987; Branlard *et al.*, 1989) при исследовании ВМСГ у образцов *T. dicoccum* и *T. durum* не обнаружили

ВМ-субъединиц глютеина (17+18) и (7+9), на основе чего был сделан вывод о мутационном происхождении этих субъединиц в ТА (Branland *et al.*, 1989). У этого предположения нет оснований, так как в обоих случаях анализировалось малое количество зерновок (не более 2 или не более 10), что конечно недостаточно при низкой встречаемости аллелей. Субъединицы (17+18) ВМ-глютеина были обнаружены в образцах *T. dicocum* в более поздней работе (Piergiovanni, Blanco, 1999). Судя по результатам, полученным на невсхожих зерновках, можно думать, что аллель *Glu-B1i* присутствует в коллекции *T. dicocum* ВИР.

Нами были продолжены поиски редкого аллеля *Glu-B1i* в двух образцах *T. dicocum* из коллекции Н.П. Гончарова. Один образец имел состав субъединиц (2*; 6+8) из коллекции О.И. Майстренко, а другой образец (№ 7647 коллекция 2) содержал субъединицу 2**, кодируемую *Glu-A1* по каталогу Branland с совт. (1989), и редкий аллель локуса *Glu-B1*. Для продуктов локуса *Glu-B1* были определены Mr. Для гена *1Bx* – 94,8 kDa, а для *1By*-гена – 90,6 kDa. Эти Mr соответствуют субъединицам (13+16) согласно каталогу Р. Рауне и G. Lawrence (1983). Следует отметить, что локус *Glu-B1* слабо экспрессирует дополнительно субъединицы (7+8), кроме субъединиц (13+16), т. е. данный локус находится в гетерозиготном состоянии. По этой причине образец (№ 7647, кол. 2) нуждается в мониторинге по ВМСГ при пересевах (табл. 2). Образец *T. dicocum* с аллелем *Glu-B1f* (13+16) имеет такую же высокую *Glu-1* оценку качества, как аллель *Glu-B1i* субъединицы (17+18) (табл. 1). Аллель «f» субъединицы (13+16) еще более редок среди коммерческих сортов и в отечественных сортах не встречается (Morgunov *et al.*, 1993).

Анализ 10 индивидуальных зерновок синтетического гексаплоида (*T. timopheevi* × *T. tauschii*) д-ра М. Савова не выявил полиморфизма среди ВМСГ. Продукты локуса *Glu-G1* по подвижности в одномерном электрофорезе PAGE-SDS для синтетика совпадают с продуктами локуса *Glu-G1*, найденными в образце *T. timopheevi* из коллекции Е.Б. Будашкиной. Продукты локуса *Glu-D1* идентифицированы по каталогу (Pfluger *et al.*, 2001) и представлены в табл. 2. Обращает на себя внимание то, что локус *Glu-A1* у данного синтетика молчит по не известным пока

причинам. В литературе описаны две причины молчания генов локуса *Glu-A1* у сортов мягкой пшеницы: либо гены могут быть повреждены вставкой фрагмента мобильного элемента, либо стоп-кодоном. В нашем случае можно предположить, что локус *Glu-A1* замолчал, оказавшись под супрессией продукта(ов) 1D хромосом. Альтернативным объяснением является реорганизация в области локуса *Glu-A1*, приводящая к его инактивации.

Заключение

Как показали наши исследования, образец *T. timopheevi* экспрессирует три продукта локуса *Glu-A1*, тогда как в коммерческих сортах с гомологичного локуса экспрессируется только одна или ни одной субъединицы. Потенциально образец *T. timopheevi* может выступать в роли донора активного гена ВМСГ-1*Au* и тем самым являться донором хороших хлебопекарных качеств. Можно надеяться, что в коллекции ВИР есть образец *T. dicocum* с аллелем *Glu-B1i* (17+18), который обнаружен в Гибриде 21. Образец *T. dicocum* (№ 7647 коллекция 2) имеет редкие аллели локусов *Glu-1* и нуждается в мониторинге по ВМСГ при пересевах, так как локус *Glu-B1* находится в гетерозиготном состоянии. Синтетическая пшеница д-ра М. Савова не может являться донором высокого хлебопекарного качества из-за молчания локуса *Glu-A1*.

Отметим также, что родительские формы целесообразно сохранять наравне с новыми формами для дальнейших генетико-сравнительных исследований или для использования родительских форм вновь.

Автор благодарит коллег Е.Б. Будашкину, М.Ф. Ермакову, Л.И. Лайкову и Н.П. Гончарова за предоставленные образцы, Г.В. Генералову за помощь в работе и Е.В. Левитеса за полезные обсуждения.

Литература

Будашкина Е.Б. Цитогенетическое изучение межсортовых гибридов пшеницы (*Triticum aestivum* × *Triticum dicocum*) и их селекционное значение: Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1975. 174 с.

- Будашкина Е.Б., Калинина Н.П. Способ создания интрогрессивных линий мягкой пшеницы ($2n = 42$), устойчивых к бурой ржавчине: Российский патент № 2138155 от 19.03.1998. Государственный реестр изобретений Российской Федерации. М. 27 сентября 1998 г.
- Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В. и др. Пшеницы мира / Под ред. В.Ф. Дорофеева. Л.: Агропромиздат, 1987. 560 с.
- Лайкова Л.И., Арбузова В.С., Ефремова Т.Т., Попова О.М. Создание иммунных линий сорта Саратовская 29 с комплексной устойчивостью к грибам бурой ржавчины и мучнистой росы // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 1–4.
- Обухова Л.В., Будашкина Е.Б., Ермакова М.Ф. и др. Качество зерна и муки у интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генами устойчивости к листовой ржавчине от *Triticum timopheevii* Zhuk. // С.-х. биология. 2008. № 5. С. 38–42.
- Обухова Л.В., Будашкина Е.Б., Шумный В.К. Поиск высокомолекулярных субъединиц глютеина *Triticum timopheevi* Zhuk. у линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L. × *Triticum timopheevi* Zhuk.) // Генетика. В печати.
- Обухова Л.В., Ермакова М.Ф., Будашкина Е.Б., Генералова Г.В. Иммунный Гибрид 21 как потенциальный донор высокого хлебопекарного качества пшеницы // Селекция сельскохозяйственных культур на иммунитет. Новосибирск, 2004. С. 112–114.
- Обухова Л.В., Майстренко О.И., Генералова Г.В. и др. Состав высокомолекулярных субъединиц глютеина у замещенных линий мягкой пшеницы, созданных с участием сортов с контрастными хлебопекарными свойствами // Генетика. 1997. Т. 33. № 8. С. 1179–1184.
- Branlard G., Autran J.C., Monneveux P. High molecular weight glutenin subunit in *durum* wheat (*T. durum*) // Theor. Appl. Genet. 1989. V. 78. P. 353–358.
- Galili G., Feldman M. Genetic control of endosperm proteins in wheat 1. The use of high resolution one-dimensional gel electrophoresis for the allocation of genes coding for endosperm protein subunits in the common wheat cultivar Chinese Spring // Theor. Appl. Genet. 1983. V. 64. P. 97–101.
- Lukow O.M., Payne P.I., Tkachuk R. The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality // J. Sci. Food Agric. 1989. V. 46. P. 451–460.
- Maystrenko O.I., Laikova L.I., Arbuzova V.S., Popova O.M. Development of analogues of common spring wheat cv Saratovskaya 29 with complex resistance to powdery mildew, leaf and stem rust // 5th Intern. Wheat Conf. Ankara, 1996. P. 144.
- Morgunov A.I., Pena R.J., Crossa J., Rajaram S. Worldwide distribution of Glu-1 alleles in bread wheat // J. Genet. Breed. 1993. V. 47. P. 53–60.
- Payne P.I., Lawrence G.J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat // Cereal Res. Commun. 1983. V. 11. P. 29–35.
- Payne P.I., Nightingale M.A., Krattiger A.F., Holt L.M. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties // J. Sci. Food Agric. 1987. V. 40. P. 51–65.
- Pfluger L.A., D'Ovidio R., Margiotta B. *et al.* Characterisation of high- and low-molecular weight glutenin subunits associated to the D genome of *Aegilops Tauschii* in a collection of synthetic hexaploid wheats // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 103. P. 1293–1301.
- Piergiovanni A.R., Blanco A. Variation of HMW glutenin and γ -gliadin subunits in selected accessions of *Triticum dicoccon* (Schrack) and *T. spelta* L. // Cereal. Res. Comm. 1999. V. 27 (1/2). P. 205–211.
- Vallega V., Waines J.G. High-molecular-weight glutenin subunit variation in *Triticum turgidum* var. *dicoccon* // Theor. Appl. Genet. 1987. V. 74. P. 706–710.

HIGH MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNITS IN WHEAT ACCESSIONS SERVING AS FUNGAL INFECTION IMMUNITY DONORS

L.V. Obukhova

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: entin@isp.nsc.ru

Summary

High molecular weight glutenin subunits (HMW) were analyzed in five Triticeae accessions from collections kept at the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS: *Triticum timopheevi* Zhuk., *Triticum dicoccum* (Schrank.) Schuebl., and Dr. Savov's amphiploid (*Triticum timopheevi* Zhuk. × *Triticum tauschii* (Cosson) Schmal.). Part of them had been used in raising new common wheat varieties possessing fungus resistance and other commercially important traits. Bread-making quality was assessed according to HMW subunit score in the parental accessions, and allelic states of Glu-1 loci as markers of Group 1 chromosomes were determined.

ТРИППИНГ И СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ У МНОГОЛЕТНИХ ВИДОВ ЛЮЦЕРНЫ *MEDICAGO L.* ПРИ СВОБОДНОМ ЦВЕТЕНИИ И ОПЫЛЕНИИ

В.И. Коваленко, В.К. Шумный

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Проведенное изучение при свободном цветении семенной продуктивности у многолетних видов люцерны показало, что при относительно высоком уровне опыления (72,9–85,4 %) уровень значения показателя семенной продуктивности – число семян на опыленную завязь – был низким и варьировал в зависимости от популяции видов от 18,6 до 27,4 %. В качестве механизмов, влияющих на результаты аллогамного, автогамного и гейтеногамного типов опыления при свободном цветении, рассматриваются скорость роста пыльцевых трубок и структурные особенности цветков люцерны – механизм триппинга, который нарушает их жизненный цикл и ограничивает время, благоприятное для нормального оплодотворения, дифференцируя тем самым оплодотворяющую способность попавших на рыльце столбика цветков пыльцевых зерен в зависимости от скорости роста их пыльцевых трубок. Предполагается, что благодаря такому механизму на фоне общего снижения семенной продуктивности в популяции поддерживается относительно более высокая доля семенного потомства от оплодотворения семяпочек пыльцой с других растений, что для выживаемости вида люцерны как многолетней жизненной формы может играть положительную роль, поддерживая в популяции определенный уровень гетерозиготности.

Ключевые слова: опыление, триппинг, цветок, завязь, цветение, популяция, семенная продуктивность, вид.

Многолетние виды рода *Medicago L.* являются перекрестниками с энтомофильным способом опыления. Цветки видов люцерны имеют своеобразную структуру. Тычиночно-пестничная колонка заключена под напряжением внутри лодочки, и перед опылением необходимо вскрытие – триппинг, или взрыв цветка, в результате которого лепестки лодочки раскрываются, тычиночно-пестничная колонка высвобождается. Опыление происходит в момент вскрытия цветка, когда освобожденное рыльце столбика соприкасается с пыльцой на брюшке насекомого. Основными насекомыми-опылителями цветков люцерны являются дикие одиночные пчелы и шмели (Понамарев, 1954). Цветки люцерны посещают и медоносные пчелы, однако, как показали специальные наблюдения, они не вскрывают цветков и не производят опыление. Всего же в опылении люцерны принимают участие представители 161 вида Пчелиных, но основными опылителями в разных

климатических зонах возделывания люцерны являются 3–8 видов, а остальные представлены единичными особями (Гончаров, Лубенец, 1985). Успешность опыления у люцерны зависит от количества и опылительной активности одиночных диких пчел и шмелей, а также от многих экологических факторов, влияющих на среду обитания этих насекомых. Все это делает люцерну одной из трудных культур для возделывания, и ее семенная продуктивность плохо поддается контролю в процессе селекции и особенно в процессе возделывания, что выражается в неустойчивых и низких урожаях семян у этой культуры. Наличие необходимых опылителей и их активная посещаемость цветков являются необходимыми условиями семенного воспроизводства у энтомофильных видов. Однако уровень воспроизводимой семенной продуктивности у каждого энтомофильного вида во многом определяется особенностями системы размножения вида и прежде всего таких ее

звеньев, как структурные особенности цветков и генетической системы контроля аллогамного типа опыления.

В предлагаемой работе делается попытка подхода к объяснению одной из причин низкой и неустойчивой семенной продуктивности у многолетних видов люцерны, связанной со структурными особенностями ее цветка и роли механизма триппинга в системе размножения этого вида. Нам представляется, что такой подход может привести к более целенаправленной генетико-селекционной реконструкции растения люцерны в плане повышения и устойчивости ее семенной продуктивности.

Материал и методика исследования

Изучение семенной продуктивности при свободном цветении у видов люцерны проводили в Восточном Казахстане на популяциях 5 видов. Четыре из них – *M. hemicycla* Grossh. (люцерна полузакрученная), *M. transoxana* Vass. (люцерна гиссарская), *M. trautvetteri* Sumn. (люцерна Траутветтера) и *M. tianshanica* Vass. (люцерна тяньшанская) являются дикими видами, а люцерна Синегибридная местная – культурная популяция вида *M. sativa* L., широко используемая в условиях Восточного Казахстана. По каждой популяции высевалось по 54 растения, и в период цветения случайным образом выделялось по 18 растений, на каждом из которых отмечалось по 100 цветков. В период цветения ежедневно в 16 часов на каждом из выделенных растений проводили визуальные наблюдения. Отмечались число опавших нетриппингованных цветков, число опыленных (триппингованных) цветков, число опавших опыленных (триппингованных) цветков и число завязавшихся бобов. У полученных бобов определялось число семян и рассчитывалось среднее число семян на цветок, на опыленный цветок (завязь) – долю таких цветков определяли по количеству триппингованных цветков, и число семян на боб. Значения полученных средних по этим признакам выражали в процентах к числу семяпочек в завязях цветков (у изучаемых видов насчитывали по 11 семяпочек). Средний уровень завязываемости бобов, среднее число семян на опыленную завязь и среднее число семян на боб при самоопылении растений в попу-

ляциях Синегибридная местная и *M. transoxana* Vass. получали в результате проведения искусственного триппинга цветков на растениях этих популяций. Выборка в популяции Синегибридная местная составляла 184 растения, в *M. transoxana* Vass. – 209 растений. У каждого растения искусственно триппинговалось по 100 цветков. Все полученные результаты подвергались статистической обработке.

Результаты и обсуждение

Из данных табл. 1 видно, что доля опавших нетриппингованных цветков (которые не посещались опылителями) у растений популяций Синегибридная местная, *M. transoxana* Vass. и *M. tianshanica* Vass. была практически одинаковой (соответственно 14,6, 14,9 и 15,2 %) и соответственно одинаковой была у них и доля опыленных цветков (или уровень опыления): 85,4, 85,1 и 84,8 %. У растений видов *M. hemicycla* Grossh. и *M. trautvetteri* Sumn. доля неопыленных цветков была существенно более высокой (24,8 и 27,1 %) и соответственно уровень опыления был более низким (75,2 и 72,9 %), хотя для люцерны полученные показатели можно считать высокими, учитывая, что ее цветки опыляют в основном только одиночные дикие пчелы и шмели. Из табл. 1 также видно, что при практически одинаковых уровнях опыления (85,4 и 85,1 %) популяции Синегибридная местная и *M. transoxana* Vass. различались по фактическому уровню (69,1–78,9 %) завязываемости бобов (число фактически завязавшихся бобов к числу наблюдаемых цветков) и по уровню эффективности опыления (число завязавшихся бобов к числу опыленных цветков) – 80,9 и 92,7 %. Эти различия можно объяснить более высокой долей (19,1 %) опавших опыленных цветков у растений популяции Синегибридная местная, чем у растений *M. transoxana* Vass. (7,3 %). В среднем по 5 популяциям фактический уровень завязываемости бобов составил 71,7 % (с варьированием в зависимости от популяции от 66,9 до 78,9 %) (табл. 1).

Уровень завязываемости семян. Определялись три показателя: число семян на цветок, число семян на опыленную завязь и число семян на боб (табл. 2). Показатель «число семян на цветок» отражает фактический уровень завяз-

Таблица 1

Уровень завязываемости бобов у популяций люцерны при свободном цветении и опылении

Виды	Число цветков, шт.	Число опавших неопыленных цветков		Число опыленных цветков		Число опавших опыленных цветков		Получено бобов	
		шт.	в % от числа цветков	шт.	в % от числа цветков	шт.	в % от числа опыленных цветков	шт.	в % от числа цветков
<i>M. sativa</i> L. (Синегридная местная)	1800	262	14,6	1538	85,4	294	19,1	1244	69,1
<i>M. hemicycla</i> Grossh.	1800	447	24,8	1353	75,2	149	11,0	1204	66,9
<i>M. traxoxana</i> Vass.	1800	268	14,9	1532	85,1	112	7,3	1420	78,9
<i>M. trauvetteri</i> Sumn.	1800	488	27,1	1312	72,9	102	7,8	1210	67,2
<i>M. tianshanica</i> Vass.	1800	273	15,2	1527	84,8	156	10,2	1371	76,2
В среднем по популяциям	1800	347,6	19,3	1452,8	80,7	162,6	11,2	1289,8	71,7

Таблица 2

Показатели семенной продуктивности популяций видов люцерны при свободном цветении и опылении

Виды	Число семян на боб		Число семян на опыленную завязь		Число семян на цветок	
	M ± m	в % от числа семяпочек	M ± m	в % от числа семяпочек	M ± m	в % от числа семяпочек
<i>M. sativa</i> L. (Синегридная местная)	2,53 ± 0,04	23,0	2,05 ± 0,04	18,6	1,75 ± 0,04	15,9
<i>M. hemicycla</i> Grossh.	2,87 ± 0,04	26,1	2,56 ± 0,5	23,3	1,92 ± 0,04	17,5
<i>M. traxoxana</i> Vass.	3,26 ± 0,05	29,6	3,02 ± 0,05	27,4	2,57 ± 0,05	23,4
<i>M. trauvetteri</i> Sumn.	2,96 ± 0,04	26,9	2,73 ± 0,05	24,8	1,99 ± 0,04	18,1
<i>M. tianshanica</i> Vass.	2,97 ± 0,04	27,0	2,67 ± 0,05	24,3	2,27 ± 0,04	20,6
В среднем по популяции	2,93 ± 0,04	26,6	2,60 ± 0,05	23,6	2,10 ± 0,04	19,1

звания семян в условиях проведенного опыта. Достоверно более высоким по отношению к показателям, полученным у 4 других популяций, он был у растений *M. transoxana* Vass. $2,57 \pm 0,05$ семян или 23,4 % от потенциально возможного числа семян. Достоверно более низким значение этого показателя было у растений Синегибридной местной: $1,75 \pm 0,04$ семян или 15,9 %. У растений популяций *M. hemicycla* Grossh. и *M. trautvetteri* Sumn. число семян на цветок было практически одинаковым: $1,92 \pm 0,04$ семян или 17,5 % и $1,99 \pm 0,04$ или 18,1 %. Несколько более высоким по отношению к ним значение этого показателя было у растений *M. tianshanica* Vass.: $2,27 \pm 0,04$ семян или 20,6 % от потенциально возможного (табл. 2).

Число семян на опыленную завязь отражает эффективность опыления при семенной репродукции популяции. У растений популяции Синегибридная местная этот показатель был достоверно более низким ($2,05 \pm 0,04$ семян или 18,6 %) по отношению к 4 другим популяциям. Достоверно более высоким этот показатель отмечен у растений популяции *M. transoxana* Vass.: $3,02 \pm 0,05$ семян или 27,4 %. У растений популяций *M. trautvetteri* Sumn. и *M. tianshanica* Vass. среднее число семян на опыленную завязь было практически одинаковым ($2,73 \pm 0,05$ семян или 24,8 % и $2,67 \pm 0,05$ семян или 24,3 %), а у растений *M. hemicycla* Grossh. ($2,56 \pm 0,05$ семян или 23,6 %) несколько ниже, чем у *M. trautvetteri* Sumn., и практически одинаковым с показателем у *M. tianshanica* Vass. (табл. 2). Третий показатель – число семян на боб или семенная фертильность бобов. Из табл. 2 видно, что этот показатель у растений популяции Синегибридная местная ($2,53 \pm 0,04$ семян или 23,0 %) был достоверно более низким по сравнению с данными 4 других популяций. Достоверно более высоким этот показатель был у бобов, полученных у растений *M. transoxana* Vass.: $3,26 \pm 0,05$ семян или 29,6 % от потенциально возможного числа семян. У бобов растений популяций *M. hemicycla* Grossh., *M. trautvetteri* Sumn. и *M. tianshanica* Vass. число семян на боб было практически одинаковым ($2,87 \pm 0,04$ семян или 26,1 %, $2,96 \pm 0,04$ семян или 26,9 % и $2,97 \pm 0,04$ семян или 27,0 %).

Из анализа данных табл. 1 и 2 видно, что в условиях свободного цветения и опыления

цветков при относительно высоком уровне опыления в изучаемых популяциях (72,9–85 %) и высокой эффективности опыления по уровню завязываемости бобов (80,9–92,7 %) уровни значений показателей семенной продуктивности (число семян на цветок, число семян на опыленную завязь и число семян на боб) были низкими и соответственно составляли 19,1 % (с варьированием от 15,9 до 23,4 % в зависимости от популяции), 23,6 % (с варьированием от 18,6 до 27,6 %) и 26,6 % (с варьированием от 23,0 до 29,6 %). Важным показателем для анализа уровня семенной продуктивности при свободном цветении и опылении является наблюдаемое число опавших триппингованных цветков, которое может быть показателем визуально наблюдаемого уровня автогамного и гейтеногамного типов опыления с учетом того, что люцерна относится к видам с генетической системой самонесовместимости гаметофитного типа (Суриков, 1972). Своеобразие процесса опыления у люцерны заключается в том, что цветок люцерны в течение своего жизненного цикла посещается опылителем только один раз – когда он вскрывает его (триппингует) и производит опыление. Вскрытые цветки повторно опылителем не посещаются, в то время как у других энтомофильных видов (гречиха, эспарцет и др.) цветок в течение жизненного цикла может посещаться опылителем 2, 3, а то и 4 раза, увеличивая вероятность аллогамного типа опыления. Отмечая значительные различия по количеству опавших опыленных (триппингованных) цветков у популяций Синегибридная местная и *M. transoxana* Vass. при одинаковых уровнях опыления (табл. 1), можно предположить, что эти различия являются следствием различий в генотипической структуре этих популяций по способности растений завязывать бобы в результате авто- и гейтеногамного типов опыления. При этом фиксировались лишь визуально наблюдаемые результаты такого опыления. Допуская наличие в изучаемых популяциях полиморфизма по этому признаку и учитывая своеобразие процесса опыления, можно предположить, что уровень авто- и гейтеногамного опыления у этих двух популяций в условиях проводимого опыта был значительно выше зафиксированного по количеству опавших триппингованных цветков. В табл. 3 приведены

Таблица 3

Показатели семенной продуктивности у растений видов люцерны при искусственном триппинге цветков

Показатели	<i>M. transoxana</i> Vass.	Синегибридная местная (<i>M. sativa</i> L.)
Уровень завязываемости бобов, %	45,1	32,5
Число семян на боб	2,73 ± 0,02 (24,8 %)*	1,53 ± 0,02 (13,9 %)*
Число семян на опыленную завязь	1,23 ± 0,08 (11,2 %)*	0,52 ± 0,06 (4,7 %)*

* В % по отношению к 11 семечкам.

данные, полученные при изучении показателей семенной продуктивности у этих двух популяций в условиях строгого автогамного опыления (искусственный триппинг цветков). Видно, что у популяции дикого вида *M. transoxana* Vass., сформировавшегося в Среднеазиатском генцентре (Гиссарская долина, Таджикистан), уровень значений этих показателей достоверно выше, чем у сорта-популяции Синегибридная местная (табл. 3), созданного на основе вида *M. sativa* L. и прошедшего в процессе селекции в условиях Восточного Казахстана жесткий отбор по таким признакам, как зимостойкость, долголетие, число укосов и урожай вегетативной массы, что дает основание предполагать существенные различия в генотипической структуре этих популяций по частоте и способности генотипов растений при самоопылении их цветков завязывать определенное количество семян, что выражается в достоверности различий значений показателя «число семян на опыленную завязь», отражающего уровень самофертильности растений или уровень эффективности автогамного опыления в этих популяциях. У растений *M. transoxana* Vass. этот показатель (11,2 %) в 2,4 раза выше, чем у растений Синегибридной местной (4,7 %), так же, как и отношение средних этих показателей, полученных при искусственном триппинге цветков, к средним при свободном цветении и опылении. Для *M. transoxana* Vass. это отношение равно 0,404, а для Синегибридной местной – 0,254. Таким образом, в условиях свободного цветения и опыления возможный вклад автогамии в популяции *M. transoxana* Vass. в конечный результат опыления мог составить до 40,4 %, а у Синегибридной местной до 25,4 %, что могло сказаться и на величине полученных средних числа семян на опыленную завязь (3,02 ± 0,05 и

2,05 ± 0,04) и эффективности опыления (27,4 и 18,6 %) в пользу *M. transoxana* Vass. Еще более низкие значения показателей семенной продуктивности при искусственном триппинге цветков были получены у сортов-популяций, созданных и прошедших жесткий отбор на выживаемость в условиях Западной Сибири. По данным Э. Квасовой с соавт. (1971) у сортов-популяций Омская, Бийская (*M. sativa* L.) и Марусинская (*M. falcate* L.) в среднем на одном растении завязывалось соответственно 26,5, 21,4 и 18,7 % бобов от числа триппингованных цветков, а частота класса полностью самостерильных растений соответственно составляла 16,4, 18,0 и 20,7 %. В *M. transoxana* Vass. в среднем на одном растении завязывалось 45,1 % бобов, а частота класса полностью самостерильных растений составила только 5,3 % от всей выборки. Из анализа полученных и литературных данных следует, что при свободном цветении и опылении у популяций многолетних видов люцерны получаемый уровень семенной продуктивности является результатом аллогамного, автогамного и гейтеногамного типов опыления и особенностей генотипической структуры популяций по способности отдельных генотипов растений завязывать при самоопылении их цветков определенное количество семян. В популяциях южных регионов распространения многолетних видов рода *Medicago* L. частота таких генотипов растений может быть значительно выше, чем в популяциях северных регионов, где проходит жесткий отбор на выживаемость, и менее конкурентоспособные генотипы растений, полученные в результате такого самоопыления цветков, могут элиминироваться из популяций значительно быстрее, чем из популяций в южных регионах, где складываются более

благоприятные условия для роста и развития таких растений. По данным А.И. Иванова (1974, 1980), в Среднеазиатском, Переднеазиатском и Закавказском генцентрах сосредоточен мировой генофонд по самофертильности многолетних видов рода *Medicago* L. В то же время в Европейско-Сибирском центре происхождения культурных растений (периферия ареалов *M. sativa* L. и первичные генцентры для таких видов, как *M. varia* Mart., *M. falcata* L. – сибирские и европейские пойменно-степные экотипы) находятся источники таких важнейших признаков и свойств, как зимостойкость, долголетие, устойчивость к вытаптыванию скотом, самонесовместимость и ЦМС.

Выделение по результатам триппинга классов растений с различным уровнем завязываемости бобов и самофертильности растений свидетельствует о наличии у люцерны двух разных механизмов, контролирующих процессы самоопыления и самооплодотворения. Результаты изучения целесообразности такого двойного контроля аллогамного опыления у люцерны и сущности механизма триппинга и его влияния на жизненный цикл цветка обсуждались в ранее опубликованных нами работах (Коваленко и др., 1987а, б). Было показано, что триппинг – это механизм, приводящий к нарушению жизненного цикла цветка, следствием которого могут быть изменение биохимической среды рыльца столбика и связанное с этим прорастание и рост пыльцевых трубок в тканях столбика. Конечный же результат опыления зависит от характера роста пыльцевых трубок, контролируемого генетической системой самонесовместимости. Описание цитозембриологических особенностей семяобразования при различных типах опыления у люцерны сделано в 1940-х гг. Д. Купером и Р. Бринком (Cooper, Brink, 1940), а позднее Сайерсом и Марфи (Sayers, Murphy, 1966) и рядом наших исследователей (Квасова, Шумный, 1977; Верещагина, Колясникова, 1986; Вишнякова, 1986; Орел и др., 1986; Ибрагимова и др., 1990). Из разнообразия фактов, характеризующих особенности процесса оплодотворения у люцерны, можно отметить несколько наиболее важных из них, которые отмечались и анализировались в этих работах. При самоопылении и перекрестном опылении пыльцевые трубки растут только в

течение 44–48 ч, начиная с момента опыления (вскрытия) цветка. Наиболее благоприятные физиологические условия для роста пыльцевых трубок и наиболее быстрый рост пыльцевых трубок отмечаются в первые 20 ч с момента опыления цветка. При самоопылении пыльцевые трубки растут значительно медленнее, чем при перекрестном опылении. Количество пыльцевых трубок и глубина их проникновения в завязь при самоопылении зависят от уровня самофертильности растений. Частота оплодотворенных семяпочек имеет базипетальный градиент, т. е. большая часть оплодотворенных семяпочек приходится на верхнюю часть завязи и при самоопылении, и перекрестном опылении. Часть семяпочек с проросшими в них пыльцевыми трубками в дальнейшем не развивается и abortируется. Общий процент таких семяпочек выше при самоопылении, однако в обоих вариантах опыления частота abortивности повышается от апекса к основанию завязи. Анализ выше отмеченных фактов, характеризующих особенности процесса оплодотворения у люцерны, показывает, что их проявление связано с механизмом триппинга, а вероятность благополучного завершения процесса оплодотворения (образование нормального семени) определяется двумя переменными факторами – скоростью роста пыльцевых трубок и динамикой завершающего этапа жизненного цикла цветка, связанного с механизмом триппинга. При свободном цветении и опылении на рыльце столбика цветка люцерны всегда попадает как своя пыльца, так и пыльца с цветков других растений. При этом насекомые-опылители производят триппинг цветков, который нарушает их жизненный цикл и резко ограничивает время, благоприятное для осуществления нормального оплодотворения, дифференцируя тем самым оплодотворяющую способность попавших на рыльце столбика пыльцевых зерен в зависимости от скорости роста их пыльцевых трубок. Благодаря такому механизму пыльцевые трубки, проросшие от опыления собственной пылью, как медленно растущие не могут так быстро достигать семяпочек, как пыльцевые трубки от «чужой» пыльцы, и среди тех семяпочек, которое они достигают, в дальнейшем значительное их количество abortируется, а образовавшаяся в результате такого самоопыления

цветков доля семян в дальнейшем подвергается жесткому отбору уже на уровне полученных из них генотипов растений. Вследствие этого при свободном цветении и опылении доля семенного потомства, получаемого в результате автотриппинга и авто- и гейтеногамии, осуществляемых насекомыми, в общей семенной продуктивности такой популяции снижается. На фоне общего снижения семенной продуктивности при свободном цветении и опылении благодаря механизму триппинга в популяции поддерживается относительно более высокая доля семенного потомства, получаемого от оплодотворения семян пылью с других растений. Для выживаемости видов люцерны как многолетней жизненной формы наличие такого отбора при одновременном снижении общей семенной продуктивности может играть положительную роль, поддерживая в популяции определенный уровень гетерозиготности, что будет иметь особенно важное значение в условиях снижения опылительной активности насекомых, когда уровень авто- и гейтеногамии будет возрастать. С другой стороны, это объясняет, почему у многолетних видов люцерны при свободном цветении и опылении и относительно высоком уровне опыления число семян на опыленную завязь, отражающее эффективность опыления при семенной репродукции популяции, может быть низким и практически никогда не достигает своего потенциального уровня.

Рассмотренные особенности системы размножения видов люцерны позволяют высказать определенную точку зрения и в отношении возможностей использования самофертильных линий в селекционных программах по повышению семенной продуктивности у этой культуры. Очевидно, что в таких программах не могут быть использованы самофертильные линии с высоким уровнем (80–100 %) автотриппингующихся цветков. В созданной на основе таких линий популяции практически исключается аллогамный тип опыления, который приведет к снижению показателей по таким селекционным признакам, как урожай зеленой массы, длительность жизненного цикла, устойчивость к перезимовке и др. При селекционном решении обсуждаемого вопроса необходим определенный компромисс между желанием повышения семенной продуктивности и сохранением на не-

обходимом уровне урожая вегетативной массы у создаваемых сортов. На наш взгляд, наиболее перспективным направлением в решении этой проблемы является создание линий и клонов с высоким уровнем семенной фертильности бобов, у которых цветки должны сохранять до 8–9 сут свою способность к аллогамному опылению, т. е. оставаться нетриппингованными, обеспечивая посещаемость их опылителями, и только на 8–9-е сут своего жизненного цикла при отсутствии опылителей цветки таких линий и клонов должны образовывать бобы с высокой семенной фертильностью в результате самооплодотворения в нетриппингованном состоянии. Примерами таких клонов являются клоны 15–2 и 191К, выделенные из популяции вида *M. transoxana* Vass. Оба клона хорошо переносят перезимовку в условиях Восточного Казахстана, не уступая по урожаю зеленой массы местной популяции Синегибридной местной, и значительно превышали ее по урожаю семян. В пересчете на гектар урожай семян у Синегибридной местной составил 1,88 ц/га, а у клонов 15–2 и 191К соответственно 8,22 и 6,48 ц/га. Создаваемые на основе таких линий и клонов популяции в процессе репродукции могли бы использовать все возможности для аллогамного опыления с помощью насекомых, а в периоды, неблагоприятные для опылительной работы насекомых, ее семенная продуктивность могла бы поддерживаться за счет высокой семенной фертильности бобов при самооплодотворении. Чередувание аллогамии с частичным инбридингом позволило бы сохранять в течение ряда репродукций на достаточном уровне урожай зеленой массы и совмещать его с достаточно высокой и более стабильной семенной продуктивностью.

Заключение

Изучение при свободном цветении у многолетних видов люцерны семенной продуктивности показало, что при относительно высоком уровне опыления (72,9–85,4 %) уровень значения показателя семенной продуктивности – число семян на опыленную завязь – был низким и варьировал от 18,6 до 27,4 % в зависимости от популяции видов. Получаемый уровень семенной продуктивности у люцерны при свободном

цветении является результатом аллогамного, автогамного и гейтеногамного типов опыления и особенностей генотипической структуры популяций по способности отдельных генотипов растений завязывать при самоопылении их цветков определенное количество семян. Предполагается, что в популяциях южных регионов распространения многолетних видов люцерны частота таких генотипов растений может быть значительно выше, чем в популяциях северных регионов, где проходит жесткий отбор на выживаемость, и менее конкурентоспособные генотипы растений, получаемые в результате такого самоопыления цветков, будут элиминироваться из популяций значительно быстрее, чем в южных регионах. В качестве механизмов, влияющих на результаты опыления при свободном цветении, рассматриваются скорость роста пыльцевых трубок и структурные особенности цветков люцерны – механизм триппинга, который нарушает их жизненный цикл и ограничивает время, благоприятное для нормального оплодотворения, дифференцируя оплодотворяющую способность попавших на рыльце столбика цветков пыльцевых зерен в зависимости от скорости роста их пыльцевых трубок, что для выживаемости вида люцерны как многолетней жизненной формы может играть положительную роль, поддерживая в популяции определенный уровень гетерозиготности.

Литература

- Верещагина В.А., Колясникова Н.Л. Потенциальная и реальная продуктивность завязей видов люцерны // Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л.: ВИР, 1986. Т. 99. С. 23–27.
- Вишнякова М.А. Исследование прогамной фазы оплодотворения у люцерны в связи с самонесовместимостью // Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л.: ВИР, 1986. Т. 99. С. 17–22.
- Гончаров П.Л., Лубенец П.А. Биологические аспекты возделывания люцерны. Новосибирск: Наука, 1985. С. 70–73.
- Ибрагимова С.С., Коваленко В.И., Лаптева Л.С. Цитоэмбриологическое изучение самосовместимых и самонесовместимых клонов люцерны // Характеристика генома некоторых видов сельскохозяйственных растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1990. С. 118–128.
- Иванов А.И. Генофонд *Medicago L.* в центрах происхождения культурных растений и перспективы его использования в селекции // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1974. Т. 52. Вып. 2. С. 53–76.
- Иванов А.И. Генцентры люцерны по теории Н.И. Вавилова и ее дальнейшее развитие // Люцерна. М.: Колос, 1980. С. 57–84.
- Квасова Э.В., Нежевенко Г.И., Шумный В.К. Структура популяций люцерны по признаку самофертильности // С.-х. биология. 1971. Т. 6. № 4. С. 608–609.
- Квасова Э.В., Шумный В.К. О механизмах самонесовместимости у люцерны // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1977. № 15. Вып. 3. С. 62–68.
- Коваленко В.И., Ибрагимова С.С., Шумный В.К. Триппинг и его влияние на жизненный цикл цветка и завязываемость бобов у люцерны // С.-х. биология. 1987а. № 4. С. 20–27.
- Коваленко В.И., Ибрагимова С.С., Шумный В.К. и др. Триппинг и эволюция системы размножения видов рода *Medicago L.* // С.-х. биология. 1987б. № 8. С. 35–40.
- Орел Л.И., Константинова Л.Н., Огородникова В.Ф., Дзюбенко Н.И. Фертильность семян люцерны и методы ее оценки // Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л.: ВИР, 1986. Т. 99. С. 10–17.
- Понамарев А.Н. Экология цветения и опыления злаков и люцерны // Ботан. журнал. 1954. Т. 39. № 5. С. 706–720.
- Суриков И.М. Генетика внутривидовой несовместимости мужского гаметофита и пестика у цветковых растений // Усп. соврем. генетики. М.: Наука, 1972. Вып. 4. С. 119–169.
- Cooper D.C., Brink R.A. Partial self-incompatibility and the collapse of fertile ovules as factors affecting seed formation in alfalfa // J. Agric. Res. 1940. V. 60. № 7. P. 453–472.
- Sayers E.R., Murfy R.P. Seed set in alfalfa as related to pollen tube growth, fertilization, ovule abortion // Crop Sci. 1966. V. 6. № 4. P. 365–369.

**TRIPPING AND SEED PRODUCTIVITY IN PERENNIAL SPECIES
OF ALFALFA *MEDICAGO L.* UNDER OPEN POLLINATION AND FLOWERING**

V.I. Kovalenko, V.K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

Summary

The performed study of seed productivity in perennial species of alfalfa demonstrated that, at a relatively high pollination level (72,9–85,4 %), the indicator of seed productivity – seed number per pollinated ovary – was low and varied from 18,6–27,4 %, depending on the species population. As mechanisms affecting the results of allogamous, autogamous and heterogamous types of pollination, growth rate of pollen tubes and structural features of alfalfa flowers – tripping, which disturbs their life cycle and time favourable for their normal fertilization, thereby differentiating the fertilizing capacity of pollen grain on stigma style, depending on growth rate of pollen tubes, – are considered. It is suggested that due to this mechanism, on the background of a total decrease in seed productivity of the population, a relatively higher proportion of seed offspring from fertilization of ovules with pollen of other plants is maintained. This plays a positive part in survival of alfalfa as a perennial form because of keeping unaltered a definite heterozygosity level in the population.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ХОЛОДОВОГО РЕЦЕПТОРА *TRPM8* В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

Т.А. Потапова¹, Н.С. Юдин¹, В.Н. Бабенко¹, И.В. Пилипенко¹, В.Ф. Кобзев¹,
Л.А. Гырголька², М.И. Воевода²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: potapova@ngs.ru;
² ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск, Россия

Изучена межпопуляционная гетерогенность по однонуклеотидным полиморфизмам rs28901637 (P249P) и rs11562975 (L250L) гена холодого рецептора *TRPM8* (2q31) в этнических группах Сибири и Дальнего Востока. Состав гаплотипов русских, немцев и хантов оказался наиболее гомогенным, на 85 % состоящим из одного гаплотипа. Генетические различия между русскими–немцами и русскими–хантами были статистически недостоверны. Европеоиды и ханты отличались по частоте гаплотипов от этнических групп монголоидов. Центральноеазиатские монголоиды (казахи, тувинцы, шорцы, хакасы), проживающие на смежных территориях, по частотам гаплотипов были близки, в то время как арктические (чукчи тундровые, чукчи приморские, эскимосы) различались между собой. Низкие значения коэффициента F_{st} указывали на невысокий уровень гетерогенности между монголоидами.

Ключевые слова: ген *TRPM8*, однонуклеотидный полиморфизм, гаплотипы, популяции, коэффициент F_{st} , европеоиды, монголоиды, финно-угры.

Введение

В адаптации человека к температуре внешней среды важная роль принадлежит терморепцепторам, являющимся первичным звеном термочувствительности. У человека клонированы несколько генов, кодирующих рецепторы, охватывающие широкий диапазон температур (Caterina *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2002). Терморепцепторы преимущественно являются членами TRP (transient receptor potential) – суперсемейства потенциалзависимых катионных каналов (Voets, Nilius, 2003). Холодовой рецептор TRPM8 (известный так же, как Trp-p8 или CMR1) можно активировать пониженной температурой (в диапазоне от 8 °C до 25 °C), а также химическими агентами, такими, как ицилин и ментол (McKemy *et al.*, 2002; Nilius *et al.*, 2005).

Ген холодого рецептора *TRPM8* человека размером приблизительно в 95 тыс. п.н. расположен на второй хромосоме в районе 2q37.1 (Tsavaler *et al.*, 2001). Экспрессия гена *TRPM8* зафиксирована в ядрах клеток тройничного нерва и в клетках симпатических ганглиев. В

настоящее время в базе данных dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) описано более 100 полиморфных сайтов, локализованных в разных участках гена *TRPM8*. Известны частоты некоторых полиморфизмов гена, полученные на небольших выборках европейских и восточноазиатских популяций, исследуемых в рамках проекта HapMap (<http://www.hapmap.org>). Систематический анализ распространенности полиморфизмов гена *TRPM8* в различных этнических группах не проводили.

Целью данной работы были анализ гена холодого рецептора *TRPM8* по однонуклеотидным полиморфизмам rs28901637 (P249P) и rs11562975 (L250L) и оценка межпопуляционной дивергенции этнических групп, представляющих коренное и пришлое население Сибири и Дальнего Востока.

Материалы и методы

В работе изучены популяции русских (г. Новосибирск), российских немцев (Республика Алтай), хантов (Ханты-Мансийский автоном-

ный округ), казахов (Республика Алтай), тувинцев (Республика Тыва), хакасов (Республика Хакасия), шорцев (Кемеровская область), чукчей (Чукотский автономный округ), эскимосов (Иглулик, Канада). Выборки сформированы путем случайного отбора представителей этих этнических групп.

Проанализированные однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) гена *TRPM8* представляли синонимичные замены нуклеотидов. Полиморфизм rs28901637 (A→T) не приводит к замене аминокислоты (пролина) в белке. Аминокислота находится в позиции 249, ОНП был обозначен как P249P. ОНП rs11562975 (G→C) не меняет лейцин на другую аминокислоту в 250-й позиции и обозначен как L250L. ДНК выделяли из крови методом фенольной экстракции (Смит и др., 1990). Анализ полиморфизмов проводили с помощью аллель-специфической ПЦР. Для подтверждения результатов генотипирования проводили секвенирование образцов на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в Межинститутском центре секвенирования ДНК СО РАН. В табл. 1 указаны праймеры и некоторые параметры реакций.

Условия ПЦР были следующими: денатурация при 95 °С 1 мин, отжиг при 57 °С (или 60 °С) 1 мин, синтез при 72 °С 1 мин – 30 циклов. Амплификационная смесь в объеме 25 мкл содержала 75 мМ трис-НСl (рН 9,0), 20 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20, 1,5 (или 2,5) мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого dNTP, 0,5 мкМ каждого из праймеров, 1,25 ед. Taq-полимеразы и 0,5 мкг геномной ДНК.

Продукты ПЦР оценивали электрофорезом в 4 %-м полиакриламидном геле, окрашивание

проводили бромистым этидием и визуализировали в проходящем УФ-свете.

Частоты аллелей и генотипов сравнивали с использованием критерия χ^2 . Тест на соблюдение равновесия Харди–Вайнберга проводили с помощью программы SHNHW (Zaykin, Pudovkin, 1993). Анализ гаплотипов был проведен методом максимального правдоподобия, коэффициент F_{st} рассчитан по методу Слаткина (Slatkin, 1995) с использованием программы Arlequin (<http://lgb.unige.ch/arlequin>).

Результаты и обсуждение

Распределение частот генотипов по полиморфизму P249P во всех изученных популяциях соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (табл. 2). Несоответствие равновесию обнаружено по локусу L250L у хантов и эскимосов вследствие превышения частот гомозигот по С-аллелю.

Результаты генотипирования показали, что полиморфизм P249P отсутствовал у немцев и редко встречался у русских (0,027 Т-аллель). Частоты С-аллеля L250L ОНП в этих популяциях имели близкие значения 0,097 (русские) и 0,099 (немцы). Ханты, относящиеся к финно-угорской группе и имеющие промежуточные антропологические характеристики между европеоидами и монголоидами, по частоте L250L (0,059) были близки к европеоидам, а по P249P (0,078) проявили сходство с монголоидами.

Среди центральноазиатских монголоидов близкие частоты L250L обнаружены у казахов с тувинцами (0,207 и 0,231 соответственно) и у хакасов с шорцами (0,301 и 0,325 соответственно). Полиморфизм P249P с наибольшей частотой встречался у казахов (0,185). Тувинцы

Таблица 1

Характеристика ПЦР параметров

ОНП	Праймеры		Длина фрагмента, п.н.	Температура отжига, °С	Концентрация MgCl ₂ , мМ
P249P	А-аллель	5'-ccgatgacttcacaagagataca-3'	161	57	1,5
	Т-аллель	5'-ccgatgacttcacaagagatact-3'			
	общий	5'-ccctaaccactgaccttgaata-3'			
L250L	Г-аллель	5'-tttgggttgtgtccaggatattc-3'	207	60	2,5
	С-аллель	5'-tttgggttgtgtccaggatattg-3'			
	общий	5'-atataggattctggaggaggcat-3'			

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов L250L и P249P гена *TRPM8*

Популяции	Полиморфизмы									
	P249P					L250L				
	Генотипы, в % (N)			HWE χ^2	Частота Т-аллеля, %	Генотипы, в % (N)			HWE χ^2	Частота С-аллеля, %
	AA	AT	TT			GG	GC	CC		
Русские	94,6 (313)	5,1 (17)	0,3 (1)	2,056	0,029 ± 0,01	82,0 (847)	16,5 (171)	1,5 (15)	3,423	0,097 ± 0,01
Немцы	100 (149)	0	0	0	0	81,5 (128)	17,2 (27)	1,3 (2)	0,177	0,099 ± 0,02
Ханты	84,3 (43)	15,7 (8)	0 (0)	0,369	0,078 ± 0,03	90,2 (46)	7,8 (4)	2,0 (1)	4,449*	0,059 ± 0,02
Казахи	64,6 (82)	33,8 (43)	1,6 (2)	1,909	0,185 ± 0,02	62,5 (80)	33,6 (43)	3,9 (5)	0,068	0,207 ± 0,03
Тувинцы	78,9 (101)	19,5 (25)	1,6 (2)	0,098	0,113 ± 0,02	61,4 (81)	31,1 (41)	7,6 (10)	2,092	0,231 ± 0,03
Хакасы	82,8 (77)	16,1 (15)	1,1 (1)	0,078	0,091 ± 0,02	48,4 (45)	43,0 (40)	8,6 (8)	0,045	0,301 ± 0,03
Шорцы	80,0 (96)	17,5 (21)	2,5 (3)	1,834	0,112 ± 0,02	45,5 (61)	44,0 (59)	10,5 (14)	0,008	0,325 ± 0,03
Эскимосы	81,5 (75)	18,5 (17)	0	0,953	0,093 ± 0,02	49,4 (42)	32,9 (28)	17,7 (15)	6,070*	0,341 ± 0,04
Чукчи тундровые	51,9 (41)	40,5 (32)	7,6 (6)	0,005	0,278 ± 0,04*	50,6 (41)	37,0 (30)	12,3 (10)	1,414	0,309 ± 0,03**
Чукчи приморские	37,1 (49)	52,3 (69)	10,6 (14)	2,046	0,367 ± 0,03*	70,0 (98)	27,1 (38)	2,9 (4)	0,018	0,164 ± 0,02**

Примечание. N – количество индивидов. HWE – равновесие Харди–Вайнберга. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

(0,113), хакасы (0,091) и шорцы (0,113) имели близкие частотные значения.

Канадские эскимосы, относящиеся к арктическим монголоидам, по частотам обоих ОНП (0,093 – P249P и 0,341 – L250L) были близки к хакасам и шорцам. Высокие частотные значения полиморфизмов обнаружены у чукчей. Однако частоты ОНП тундровых чукчей (0,278 – P249P и 0,309 – L250L) достоверно отличались от приморских (0,367 – P249P и 0,164 – L250L).

Полученные результаты по распределению частоты L250L в популяциях Сибири и Дальнего Востока согласуются с данными, представленными в базе данных dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Так, частота С-аллеля L250L в европейских популяциях Западной и Северной Европы колебалась от 0,023 до 0,092, а у восточных монголоидов (китайцы и японцы) – от 0,170 до 0,389. Однако частота полиморфизма P249P

в изученной нами популяции русских более чем в 3 раза превосходила указанную в базе данных для европейской популяции (0,008).

По составу гаплотипов наиболее гомогенными оказались русские, немцы и ханты, у которых более 85 % гаплотипов были представлены GA гаплотипом, содержащим основные аллели ОНП (табл. 3). Частоты второго по встречаемости гаплотипа CA у русских и немцев имели примерно равные значения (0,098 и 0,104 соответственно). У хантов гаплотипы CA и GT встречались примерно с одинаковой частотой. Различия между русскими и немцами, а также русскими и хантами по гаплотипическому составу оказались недостоверными. Немцы отличались от хантов, хотя коэффициент гетерогенности F_{st} у них был невысокий – 0,032 (табл. 4). Казахи и тувинцы показали более низкие генетические различия с русскими, немцами и хан-

Таблица 3
Частоты гаплотипов по полиморфизмам
L250L и P249P гена *TRPM8*

Популяции	N	Частоты гаплотипов			
		GA	GT	CA	CT
Русские	154	0,859	0,0367	0,098	0,006
Немцы	149	0,896	0	0,104	0
Ханты	51	0,863	0,078	0,059	0
Казахи	118	0,611	0,182	0,199	0,008
Тувинцы	120	0,668	0,102	0,223	0,006
Шорцы	103	0,573	0,121	0,306	0
Хакасы	91	0,599	0,099	0,302	0
Эскимосы	64	0,551	0,090	0,340	0,019
Чукчи тундровые	76	0,498	0,199	0,213	0,090
Чукчи приморские	127	0,469	0,355	0,131	0,045

Примечание. N – число изученных индивидов.

тами, чем шорцы и хакасы. Так, у русских значения F_{st} составили 0,045 с тувинцами и 0,068 с казахами, в то время как с хакасами – 0,094, а с шорцами – 0,098. Аналогичное варьирование F_{st} наблюдали у немцев и хантов. Наибольшие значения F_{st} обнаружены между европеоидами, хантами и арктическими монголоидами.

Центральноазиатские монголоиды по составу гаплотипов были более гетерогенны. Частоты распространенного GA гаплотипа у них колебались от 0,628 (тувинцы) до 0,573 (шорцы). Близкие к ним значения имели эскимосы (0,551). Вторым по представленности гаплотипом в этих популяциях также являлся гаплотип CA, за исключением казахов. У казахов частота CA была сопоставима с гаплотипом GT. По составу гаплотипов казахи проявили сходство с тувинцами, но отличались как от шорцев и хакасов, так и от арктических монголоидов. Имеются сведения о том, что казахи и тувинцы были близки по генетическим маркерам генов главного комплекса гистосовместимости (HLA) (Ламажаа и др., 2003). Не обнаружены различия по частотам гаплотипов между тувинцами, шорцами и хакасами. Кроме того, шорцы и хакасы оказались близки к эскимосам. Частоты гаплотипов этнических групп центральноазиатских монголоидов и чукчей различались.

Наиболее гетерогенными по составу гаплотипов оказались чукчи. Частота распространенного GA гаплотипа у них не превышала 50 % (0,498 у тундровых и 0,469 у приморских). Частоты CA и GT гаплотипов в популяциях чукчей различались. Тундровые чукчи имели примерно равные частоты этих гаплотипов, в то время как у приморских частота GT была почти

Таблица 4
Значения коэффициента F_{st}

Популяции	F_{st}								
	Русские	Немцы	Ханты	Казахи	Тувинцы	Шорцы	Хакасы	Эскимосы	Чукчи тундровые
Немцы	0,004	–							
Ханты	0,006	0,032*	–						
Казахи	0,068*	0,105*	0,056*	–					
Тувинцы	0,045*	0,070*	0,055*	0,008	–				
Шорцы	0,098*	0,126*	0,103*	0,018*	0,006	–			
Хакасы	0,094*	0,121*	0,105*	0,022*	0,005	0,004	–		
Эскимосы	0,150*	0,186*	0,153*	0,038*	0,022*	0,002	0,001	–	
Чукчи тундровые	0,177*	0,230*	0,140*	0,020*	0,050*	0,032*	0,043*	0,038*	
Чукчи приморские	0,211*	0,265*	0,154*	0,056*	0,114*	0,114*	0,129*	0,134*	0,029*

Примечание. * Различия между популяциями достоверны при $P < 0,05$.

в 3 раза выше, чем СА. Кроме того, частота СТ гаплотипа у тундровых чукчей была в 2 раза выше приморских. Уровень гетерогенности между ними был невысокий, коэффициент F_{st} равнялся 0,029. По составу гаплотипов популяции чукчей достоверно различались. Полученные результаты согласуются с данными по полиморфизмам митохондриальной ДНК и гена *c-fms* (Воевода и др., 1994; Кузнецова и др., 2003). Разделение чукчей на две популяции основано на исторических и этнографических исследованиях (Левина, Потапова, 1956). Полагают, что современные приморские чукчи сформировались вследствие ассимиляции чукчами эскимосов. По полиморфизмам гена *TRPM8* эскимосы Канады отличались от чукчей, но проявили сходство с центральноазиатскими монголоидами (шорцами и хакасами). Ранее нами было показано, что по полиморфизмам гена *c-fms* изученные популяции эскимосов Канады и чукчей не различались (Кузнецова и др., 2003). На основании археологических и генетических исследований было сделано заключение о том, что предки современных эскимосов Канады когда-то проживали на юге Сибири (Goebel *et al.*, 2008). Изученные этнические группы монголоидов сформировались в результате сложных процессов этногенеза, включающих эффект основателя, генетический дрейф, смешивание, отбор и другие. Поэтому связаны ли наблюдаемые параллели в частотах аллелей и гаплотипов по изученным полиморфизмам гена *TRPM8* между центральноазиатскими монголоидами и эскимосами Канады с их общим происхождением, эффектом основателя или какими-то другими генетическими процессами – однозначно ответить трудно. Для выяснения роли данных полиморфизмов в адаптации к температуре требуются дополнительные исследования.

Таким образом, результаты межпопуляционного анализа показали, что европеоиды и ханты имели наиболее гомогенный состав гаплотипов по полиморфным сайтам P249P и L250L гена *TRPM8* по сравнению с монголоидами. Этнические группы центральноазиатских монголоидов, относящиеся к тюркоязычным народностям и проживающие на сопредельных территориях, оказались генетически близкими. Популяции арктических монголоидов различались между

собой по частотам гаплотипов. Тем не менее уровень межпопуляционной гетерогенности монголоидов был невысокий.

Работа была поддержана программой РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

Литература

- Воевода М.И., Авксетюк А.В., Иванова А.В. и др. Молекулярно-генетические исследования в популяциях коренных жителей Чукотки. Анализ полиморфизма митохондриальной ДНК и генов алкоголь-метаболизирующих ферментов // Сиб. экол. журнал. 1994. Т. 2. С. 149–16.
- Кузнецова Т.Н., Ромашенко А.Г., Юдин Н.С. и др. Полиморфизмы экспрессирующихся в макрогенах генов *C-FMS* и *CCR5*: частотные распределения аллелей и генотипов в некоторых этнических группах Северной Азии // Генофонд населения Сибири. Новосибирск: СО РАН, 2003. С. 48–53.
- Ламажаа А.М., Сартакова М.Л., Прокофьев В.Ф., Гельфгат Е.Л. Частота встречаемости аллелей гена *HLA-DPB1* и антигенов локусов HLA-A, -B, -C, -D, -DR в тувинской популяции // Генофонд населения Сибири. Новосибирск: СО РАН, 2003. С. 74–79.
- Левина М.Г., Потапова Л.П. Народы Сибири. М.: Изд-во АН СССР, 1956.
- Смит К., Клко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // Анализ генома: Сб. статей / Под ред. К. Дейвиса. М., 1990. С. 58–94.
- Caterina M.J., Rosen T.A., Tominaga M. *et al.* A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat // Nature. 1999. V. 398. № 6726. P. 436–441.
- Goebel T., Waters M. R., O'Rourke D.H. The late Pleistocene dispersal modern humans in the Americas // Science. 2008. V. 319. P. 1497–1502.
- McKemy D.D., Neuhausser W.M., Jullius D. Identification of a cold receptor reveals general role for TRP channels in thermosensation // Nature. 2002. V. 416. P. 52–58.
- Nilius B., Talavera K., Owsianik G. *et al.* Gating of TRP channels: a voltage connection? // J. Physiol. 2005. V. 567. P. 33–36.
- Slatkin M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies // Genetics. 1995. V. 139. P. 457–462.
- Smith G.D., Gunthorpe M.J., Kelsell R.E. *et al.* TRPV3 is a temperature-sensitive vanilloid receptor-like protein // Nature. 2002. V. 418. № 6894. P. 186–190.
- Tsavalier L., Shaper M.H., Morkowski S., Laus R. Trp-p8, a novel prostate-specific gene, is up-regulated in prostate cancer and other malignancies and shares

- high homology with transient receptor potential calcium channel proteins // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 3760–3769.
- Voets T., Nilius B. TRPs make sense // *J. Membrane Biol.* 2003. V. 192. P. 1–8.
- Zaykin D.V., Pudovkin A.I. 2 programs to estimate significance of CHI-2 values using pseudoprobability test // *J. Heredity.* 1993. V. 84. P. 152–156.

POLYMORPHISM FOR THE COLD RECEPTOR GENE *TRPM8* IN ETHNIC GROUPS OF SIBERIA AND THE FAR EAST

T.A. Potapova¹, N.S. Yudin¹, V.N. Babenko¹, I.V. Pilipenko¹, V.F. Kobsev¹,
L.A. Gyrgol'kau², M.I. Voevoda²

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail:potapova@ngs.ru;

² Institute of Internal Medicine, SB RAMS, Novosibirsk, Russia

The interpopulational heterogeneity for single nucleotide polymorphisms rs28901637 (P249P) and rs11562975 (L250L) of the cold receptor gene *TRPM8* (2q31) in ethnic groups of Siberia and the Far East was studied. The haplotype structure of Russians, Germans and Khanties was found to be the most homogeneous, 85 % being represented by a single haplotype only. The genetic differences between Russians–Germans and Russians–Khanties were statistically insignificant. The Europeoids and Khanties were differentiated from ethnic groups of Mongoloids in haplotype frequencies. The Central Asian Mongoloids (Kazakhs, Tuvinians, Shorians, Khakas) inhabiting neighbouring territories were similar in haplotype frequencies, while the Arctic Mongoloids (Tundra Chukhis, Coastal Chukhis, Eskimos) were different in this respect. The low values of the F_{st} coefficient indicated a low heterogeneity level between Mongoloids.

ПАМЯТИ В.А. МАККЬЮСИКА (1921–2008)



На 87 году 22 июля 2008 г. ушел из жизни выдающийся медицинский генетик Виктор Алмон Маккьюсик, профессор медицинской генетики Университета Дж. Хопкинса, лауреат многочисленных национальных и зарубежных наград, почетный член Российской академии медицинских наук. Его имя (вместе с лауреатом Нобелевской премии Д. Натансом) носит Институт генетической медицины Маккьюсика–Натанса Университета Дж. Хопкинса.

Детство Виктора, выросшего с братом-близнецом Винцентом, проходило в небольшом городке Паркмане (штат Мэн, США). Их семья владела молочной фермой. Начальное школьное образование он получил в местной школе, которая представляла собой одну комнату, вмещавшую всех детей городка, обучавшихся семь лет у одного учителя. В религиозной семье ценилось образование. Виктор планировал стать священником, пока не заболел и не познакомил-

ся с медициной. У 15-летнего юноши развились абсцесс левой подмышечной впадины и язвы на правом локте. Со стрептококковой инфекцией удалось справиться с помощью сульфаниламида «протозила», который стал доступен за год до болезни. Но именно в это время, наблюдая за работой врачей в Массачусетском госпитале, а затем в Мэне, он делает для себя выбор – присоединиться к врачам.

Затем был медицинский колледж Университета Ч. Тафтса. Проучившись 6 месяцев, он подал документы в медицинскую школу другого, более престижного по тем временам, Университета Дж. Хопкинса, которую закончил в 1946 г. С тех пор Виктор Маккьюсик надолго не покидал город Балтимор. После окончания Университета Дж. Хопкинса он учился в интернатуре медицинского центра им. У. Ослера этого же университета, специализируясь в области кардиологии, а с 1948 г. работал в отделении сердечно-сосудистых болезней Морского госпиталя США в Балтиморе под руководством Л. Терри, ставшего впоследствии главным хирургом Общественного центра здоровья США и известного также как инициатор организации в стране борьбы с курением сигарет.

Летом 1950 г. Маккьюсик вернулся в Университет Дж. Хопкинса и больше не покидал его до конца жизни. Сначала работал в медицинском центре У. Ослера старшим ассистентом ординатора, а затем старшим ординатором, увлеченно занимаясь кардиологией. Затем в 1957 г. он был приглашен в клинику имени Дж. Эрли Мура этого же университета и был ее руководителем до 1973 г. Именно в этой клинике хронических болезней медицинского факультета Университета Дж. Хопкинса В. Маккьюсик организовал отделение медицинской генетики, обосновывая открытие отделения утверждением, что все наследственные болезни человека являются первично-хроническими. Именно об этом периоде своей жизни он вспоминал, что по отношению к кардиологии он совершил «профессиональ-

ный суицид», сконцентрировав свое внимание на редких «несущественных» генетических заболеваниях.

С 1973 г. и практически до выхода на пенсию он был главным врачом госпиталя имени У. Ослера. Он гордился тем, что стал преемником выдающегося клинициста, описавшего тромбоциты, клиническую картину подострого септического эндокардита, семейной наследственной телеангиоэктазии, открывшего новый вид трематод – возбудителя филяриотоза, издавшего всемирно известную книгу «Принципы и практика медицины», прочитав которую американский миллиардер Дж. Рокфеллер стал вкладывать деньги в медицинские исследования – так начинал создаваться известный Рокфеллеровский институт медицинских исследований в Нью-Йорке. В этой атмосфере памяти о выдающемся клиницисте, педагоге и философе У. Ослере В. Маккьюсик сохранял и развивал традиции школы, создавая свое направление – клиническую генетику, которая, по его мнению, «обеспечивает связь, жизненное направление, фокус и цель генетики человека и вообще всей генетики». По собственному его признанию, он наслаждался этим 12-летним периодом «академического троеборья»: преподаванием, лечением и исследованиями.

С уходом на пенсию, освободившись от административных обязанностей, он продолжал заниматься педагогической и лечебно-консультативной работой на медицинском факультете Университета Дж. Хопкинса. Этот период жизни ученого начиная с середины 1980-х годов совпал с реализацией идей полного секвенирования генома человека, инициатором которых он и был. Судьба дала ему время почти в четверть века для интенсивной и плодотворной работы в программе «Геном человека» и в тех областях клинической медицины, для которых результаты геномных исследований стали воистину революционными, изменившими общий взгляд на диагностику, лечение и профилактику болезней человека, приблизившими реальность осуществления давнишней мечты медиков – персонализированной медицины.

Историкам науки еще предстоит специальный анализ жизни и творчества В. Маккьюсика – клинициста, ученого, историка медицины, писателя, педагога и наставника. Но уже сейчас

можно указать на четыре положения, которые позволяют почитать В. Маккьюсика как «отца генетической медицины».

Прежде всего, Маккьюсик – один из основателей, может быть, самый глубокий и последовательный, медицинской генетики как отдельного направления клинической медицины. Открытие 1 июля 1957 г. в многопрофильной клинике хронических болезней самостоятельного отделения медицинской генетики, равноправного с другими (кардиологическое, гастроэнтерологическое и эндокринологическое), уже само по себе подчеркивало важность и внимание к медицинской генетике как отдельной самостоятельной ветви медицинской науки и врачевания в царстве клинических дисциплин. В отделении, кроме клинической практики, были организованы 5 секций, сотрудники которых вели научные исследования (биохимическая генетика, цитогенетика, иммуногенетика и клиническая генетика).

Каждый год в течение месяца сотрудники имели возможность прослушать курс лекций выдающихся генетиков мира. Первыми среди них были К. Штерн, Г. Харрис, С. Смит. Маккьюсик всегда уделял большое внимание генетическому образованию сотрудников. Да и о себе он говорил: «В генетике я – в основном самоучка». Он организовал в 1960 г. прекрасный ежегодный двухнедельный курс в Бар-Харборе (штат Мэн, США), который с 1979 г. известен в мире ученых генетиков как «Краткий курс медицинской и экспериментальной генетики млекопитающих». Он также является основателем ежегодной «Европейской школы медицинской генетики» в Италии.

Бар-Харборские лекции начинал всегда В. Маккьюсик, и первая из них – «История медицинской генетики», – каждый год дополняемая новыми сведениями и уточнениями. В 1989 г. мне посчастливилось прослушать этот курс. На тезисах лекций, которые раздавались курсантам, он неизменно в уголочке делал пометку: «Please call my attention to errors of omission or comission. V.A.M.». Материал каждой лекции его коллег по отдельным исследованным болезням излагался в соответствии с принципами клинической генетики, сформулированными и обоснованными еще в 1968 г. в лекции Маккьюсика «Разделители и объединители: нозология и генетическое заболевание».

В. Маккьюсик – пионер в картировании генов человека. Он вспоминал, что во время первого посещения клиники Мура в 1959 г. К. Штерн обмолвился, что расположение генов на наших хромосомах является важнейшей особенностью нашей анатомии. Маккьюсик первым оценил значение появившихся в 1950-е гг. работ по анализу сцепления генов у человека для клинической медицины. Анатомическая метафора наряду с картографической часто использовалась им в освещении вопросов картирования генов у человека. Памятна его статья в «ЖАМА» (2001): «Анатомия генома человека. Неовезалианская основа медицины в 21 веке».

В клинике Э. Мура В. Маккьюсик с коллегами выполнил работу по изучению генетического расстояния между локусами G6PD и цветовой слепоты у афроамериканских мальчиков Балтиморской школы – была установлена тесная связь данных локусов. Он соавтор исследования, доказавшего локализацию гена группы крови Duffy на хромосоме 1. Первое полное обобщение картированных генов человека было представлено в публикации «Статус генетической карты хромосом человека (совместно с F. Ruddle) в журнале «Science». Вплоть до 1990 г. он был организатором и участником в разных городах мира регулярных симпозиумов «Картирование генов человека» (Human Gene Mapping – HGM).

В. Маккьюсик – лидер проекта «Геном человека». Он со времени зарождения полного секвенирования генома человека как основного подхода к точному обнаружению всех генов поддерживал программу и участвовал в ее реализации. В 1986 г. он принял активное участие в работе комитета, готовившего отчет по проблеме картирования и секвенирования генома человека, ставший главным аргументом в финансировании федеральным правительством США проекта «Геном человека». В 1987 г. он становится соредктором нового журнала «Геномика», в котором начали публиковаться результаты секвенирования геномов, в первую очередь генома человека. В стремлении к объединению успехов по картированию генома человека ученых других стран была организована HUGO, и первым ее президентом-организатором стал В. Маккьюсик. Он сумел создать авторитетный совет HUGO, объединивший 31 ученого, в том числе Нобелевских лауреатов.

Советом были определены цели деятельности и устав организации, принципы финансирования. По истечении срока пребывания в должности полномочный президент В. Маккьюсик возглавлял этический комитет HUGO.

Следует заметить, что значительно раньше, в 1969 г., на Международной конференции по ВПР в Гааге Маккьюсик впервые для собравшихся медицинских генетиков сформулировал задачу картирования генов человека как полезный подход для понимания основных нарушений при врожденных аномалиях развития. Тогда еще не было ясности в подходах к картированию генов. В 1980 г. он предположил, что через 20 лет возможно картирование всех генов человека. Так и случилось.

В. Маккьюсик – создатель каталога генов «MIM» («Mendelian Inheritance in Man»), менделевской наследственности у человека. Впервые отдельная книга «MIM» была опубликована в 1966 г. Этой публикации предшествовала большая работа Маккьюсика и его коллег по клинике Мура: первый каталог был составлен для X-сцепленных признаков, второй был основан на рецессивных заболеваниях у амишей, а затем был добавлен каталог аутосомно-доминантных заболеваний. В 1964 г. MIM был занесен в компьютер. В 1980-е гг. была подготовлена Интернет-версия MIM (OMIM). Сегодня OMIM обновляется ежедневно, а печатные издания (12-е издание 1998 г. в 3 томах) стали менее практичными и удобными в получении оперативной информации о наследственных болезнях человека. Интенсивность использования OMIM, прежде всего научными сотрудниками и врачами, отражается в большом числе пользователей, которые посещают Интернет-сайт ежедневно.

Эти четыре пожизненных достижения («life-long career») в научной деятельности В. Маккьюсика особо отмечались при вручении ему премии Альберта Ласкера – награды очень почетной в мире, а в США называемой «американским Нобелем». На самом деле вклад Виктора А. Маккьюсика гораздо значительнее. Своей жизнью в науке и врачевании он заслужил бессмертие.

P.S.

Мне посчастливилось быть знакомым с профессором В. Маккьюсиком. Летом 1989 г. я имел возможность участвовать в медико-ге-

нетическом консультировании больных с наследственными болезнями, которое проводили в госпитале Уильямса Ослера Университета Дж. Хопкинса проф. В. Маккьюсик и проф. Е. Мерфи (E. Murphy). Это был хороший опыт знакомства с организацией генетического консультирования в США. Обсуждение особенностей организации медико-генетической помощи населению с американскими корифеями медицинской генетики подтолкнуло нас к началу работы по организации в Томске Генетической клиники в НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН. Она завершилась открытием клиники в 1994 г., первой и единственной пока в России.

В этом же 1989 г. медицинская генетика отмечала 30-летие рождения клинической цитогенетики. В 1959 г. Лежен опубликовал первые результаты изучения фибробластов кожи детей с болезнью Дауна, обнаружив во всех клетках трисомию по 21-й хромосоме. В. Маккьюсик специально обсуждал это событие в своей лекции на Курсе медицинской и экспериментальной генетики млекопитающих в Бар-Харборе (США), курсантом которого я был в тот год. В эти две недели курса я видел, как велик и как любим Маккьюсик слушателями и преподавателями. Он это благодарственно чувствовал. По воспоминанию его ученика Д. Волла, навещавшего его за два дня до смерти, Маккьюсик просматривал видеозаписи материалов ежегодных курсов. Эти курсы были любимым детищем Маккьюсика.

В одном из писем к В. Маккьюсику я спросил о причине его отсутствия на Международном конгрессе по генетике человека в Австралии (Брисбен, 2006). В ответном письме я узнал печальную новость, что он болен и проходит курс химиотерапии. Позднее он прислал в приложении к очередному «электронному» письму список своих трудов. На 18 апреля 2007 г. их было 763. Думаю, полезно российским генетикам иметь полную библиографию трудов классика медицинской генетики (она прилагается в электронной версии журнала). Интересно, что сам Маккьюсик на вопрос «Oral History of Human Genetics Project» (http://www.socgen.ucla.tdu/hgp/mckusick_interview.html), какие из них главные, назвал всего 13. Они перечислены ниже.

Главные работы В.А. Маккьюсика (по его собственной оценке)

- Jeghers H., McKusick V.A., Katz K.H. Generalized intestinal polyposis and melanin spots of the oral mucosa, lips and digits // *New Eng. J. Med.* 1949. 241. P. 993–1005, 1031–1036.
- McKusick V.A. The cardiovascular aspects of Marfan's syndrome: a heritable disorder of connective tissue // *Circulation.* 1955. 11. P. 321–342. <http://circ.ahajournals.org/cgi/reprint/11/3/321>
- McKusick V.A. Heritable Disorders of Connective Tissue. St. Louis: C.V. Mosby Co., 1956 (1st ed.).
- McKusick V.A. Cardiovascular Sound in Health and Disease. Baltimore: Williams and Wilkins, 1958.
- Evans D.A.P., Manley K.A., McKusick V.A. Genetic control of isoniazid metabolism in man // *Brit. Med. J.* 1960. 2. P. 485–491.
- Porter I.H., Schulze J., McKusick V.A. Genetical linkage between the loci for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and colour-blindness in American Negroes // *Ann. Hum. Genet.* 1962. V. 26. P. 107–122.
- McKusick V.A. Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive and X-linked Phenotypes. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press, 1966 (1st ed.).
- Donahue R.P., Bias W.B., Renwick J.H., McKusick V.A. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man // *Proc. Natl Acad. Sci.* 1968. 61. P. 949–955. <http://www.jstor.org/view/00278424/ap000398/00a00270/0>
- McKusick V.A. On lumpers and splitters, or the nosology of genetic disease // *Perspect. Biol. Med.* 1969. 12. P. 298–312.
- Gale A.N., Lacassie Y., Rogers J.G. *et al.* Two «new» autosomal recessive mental retardation syndromes observed among the Amish // *Birth Defects* 1977.13(3B). P. 127–138,
- McKusick V.A. Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-linked phenotypes. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press, 1986 (7th ed.).
- Hamosh A., Scott A.F., Amberger J. *et al.* Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders // *Nucl. Acids Res.* 2002. 30. P. 52–55. <http://nar.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/30/1/52>
- OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim>

В.П. Пузырев

НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН, Томск

АНАТОЛИЙ ФЕДОРОВИЧ МЕРЕЖКО (1940–2008)

25 октября 2008 г. ушел из жизни ведущий ученый России в области генетических ресурсов, частной генетики растений и селекции, главный научный сотрудник Государственного научного центра РФ Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства имени Н.И. Вавилова Россельхозакадемии (ВИР), доктор биологических наук, профессор Анатолий Федорович Мережко.

Он родился в с. Ржевка Ровеньского района Белгородской области. Трудовую деятельность начал в 1962 г. в г. Суздале на Владимирской государственной сельскохозяйственной опытной станции (ныне Владимирский НИИ сельского хозяйства), куда он приехал работать агрономом после окончания Воронежского сельскохозяйственного института. В 1967 г. он стал заведующим лабораторией пшеницы на Кубанской опытной станции ВИР и свою работу совмещал с заочным обучением в аспирантуре ВИР. В 1970 г. окончил аспирантуру ВИР по специальности «Селекция и семеноводство» и защитил кандидатскую диссертацию на тему «Селекционная ценность пшениц Закавказья и Дагестана в условиях Кубани». В 1971 г. был направлен на научную стажировку по селекции и генетике зерновых культур в Международный центр по улучшению пшеницы и кукурузы (Мексика). С 1973 г. он – старший научный сотрудник отдела пшениц ВИР. В 1977 г. он возвратился в Мексику и в течение двух лет заведовал опорным пунктом ВИР. В 1980 г. избран по конкурсу на должность заведующего отделом генетики ВИР, а в 1987 г. – заведующим отделом пшеницы ВИР. В 1990 г. успешно защитил докторскую диссертацию на тему «Генетические основы поиска, создания и использования доноров селекционно-ценных признаков пшеницы» по специальностям «Генетика» и «Селекция и семеноводство». С 1996 г. профессор А.Ф. Мережко – главный научный сотрудник отдела

генетических ресурсов пшеницы ВИР. Благодаря высокому профессионализму, свободному владению испанским и английским языками он активно участвовал в развитии международных контактов в области изучения генетических ресурсов растений. С 1980 по 1986 гг. был представителем СССР в Комитете генетических банков Eucarpia, а с 1986 по 1992 гг. – членом Центрального совета этой организации.

Где бы ни работал Анатолий Федорович, область его интересов распространялась на генетические ресурсы, генетику и селекцию. Он теоретически обосновал и внедрил в практику методологию системного изучения мирового разнообразия сельскохозяйственных культур, позволяющую точнее и полнее определить генетический потенциал возделываемого вида, выявить наиболее ценные в селекционном отношении формы и гены, ускорить процесс их использования в селекции путем создания доноров. Им выполнены оригинальные исследования по генетике гибридного некроза, высоте растений, скороспелости, устойчивости к бурой ржавчине и другим признакам пшеницы, предложены новые подходы к генетическому анализу количественной изменчивости и разработаны компьютерные программы для их реализации. Обоснованные им теоретические положения, выделенный и созданный исходный материал широко используются в отечественной селекции.

Успешной была его работа по селекции пшеницы и тритикале. Он соавтор скороспелого сорта сильной яровой мягкой пшеницы Фора и сорта пшеницы полбы Руно. Им получены линии культурной двузернянки с неломким колосом и легким обмолотом, что создает предпосылки для возвращения полбы на поля страны. На IV международной выставке-конгрессе «Высокие технологии, инновации, инвестиции», проходившей в 2008 г. в Санкт-Петербурге, вместе с

сотрудниками отдела физиологии растений ВИР он был удостоен серебряной медали и диплома за создание изогенных линий яровой мягкой пшеницы, различающихся по аллелям генов, контролирующей реакцию на фотопериод. В последние годы большое внимание он уделял развитию селекции тритикале и расширению посевов этой культуры для диверсификации зерно- и кормопроизводства, особенно в Нечерноземье России. Анатолий Федорович считал, что нужно шире перенимать опыт Польши и Белоруссии, где тритикале давно стала одной из основных культур и урожаи в 100 ц/га уже никого не удивляют. Реализуя свои планы, он вместе с сотрудниками Владимирского НИИСХ вывел новый сорт тритикале Золотой гребешок, который способен давать высокие урожаи зерна и зерносенажной массы в условиях Северо-Западного, Центрального и Средневолжского регионов Российской Федерации.

Анатолием Федоровичем Мережко опубликовано 120 научных работ в отечественных и зарубежных изданиях. Он автор двух и соавтор 6 книг: «Пшеницы мира» (два издания: 1996, 1987), «Проблема доноров в селекции растений» (1994), «Менделевский подход к описанию наследования количественных различий» (2000), «The world wheat book: a history of wheat breeding» (2001), «Идентифицированный генофонд растений и селекция» (2005) и др. Многие годы он возглавлял Диссертационный совет при ВИР по защите докторских диссертаций, был членом Диссертационного совета по генетике при Санкт-Петербургском университете, входил в состав редакционной коллегии журнала «Экологическая генетика» и в Научный совет РАН по проблемам общей биологии. Много выступал с лекциями и докладами не только на крупных научных форумах, но и в студенческих аудиториях, на семинарах-объездах полей в Ленинградской области. Подготовил семь кандидатов и одного доктора наук.

Научные труды Анатолия Федоровича Мережко внесли огромный вклад в развитие учения об исходном материале для селекции, они навечно вписаны в историю развития генетических и селекционных исследований в ВИР.

Светлая память о нем как об одном из выдающихся ученых нашей страны сохранится в наших умах и сердцах.



Список основных научных трудов профессора А.Ф. Мережко

- Проблема гибридного некроза у пшениц // Генетика. 1969. Т. 5. № 4. С. 161–167. (Соавтор Дорофеев В.Ф.).
- Селекционная ценность пшениц Закавказья и Дагестана в условиях Кубани: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Л.: ВИР, 1970.
- К вопросу о генетических причинах гибридного некроза у пшениц // Генетика. 1970. Т. 6. № 4. С. 112–117.
- Эффективный метод опыления зерновых культур: (Метод. указания). ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. Л.: ВИР, 1973. 11 с. (Соавторы Эзрохин Л.М., Юдин А.Е.).
- Пшеницы мира. Л.: Колос. Ленингр. отд-ние, 1976. 487 с. (Соавторы Дорофеев В.Ф., Якубцинер М.М., Руденко М.И. и др.).
- Наличие генов черной окраски остей у безостых сортов мягкой пшеницы и возможные перспективы их использования в селекции // С.-х. биология. 1980. Т. 1. № 3. С. 387–391.
- К вопросу о принципах подбора родительских

- пар для скрещиваний в селекции пшеницы // Бюл. ВНИИ растениеводства. 1981. Вып. 106. С. 65–69.
- Определение числа генов, контролирующих количественные признаки растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1983. Т. 80. С. 36–47.
- Система генетического изучения исходного материала для селекции растений: (Метод. указания). Л.: ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, 1984. 68 с.
- Сотовый (гексагональный) способ размещения растений в селекционных посевах // Селекция и семеноводство. 1984. № 1. С. 12–14. (Соавтор Капешинский А.М.).
- Генетический контроль высоты растения у пшеницы // Генетика. 1986. Т. 22. № 5. С. 725–732. (Соавторы Писарева Л.А., Прилюк Л.В.).
- Генетика культурных растений. Зерновые культуры. Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1986. 264 с. (В соавторстве).
- Генетика фотопериодической чувствительности пшеницы: гибридная комбинация Ленинградка × ВИР 128 // Науч.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства. 1987. Вып. 174. С. 11–17.
- Пшеницы мира. Изд-е 2-е., перераб. и доп. Л.: ВО Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. 560 с. (Соавторы Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В. и др.).
- Проблема доноров в селекции растений // Вавиловское наследие в современной биологии. М.: Наука, 1989. С. 110–120.
- О слабых доминантных аллелях генов типа развития (*Vrn*) у яровой мягкой пшеницы // Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1989. Т. 128. С. 65–74.
- Генетические основы создания сортов пшеницы с оптимальной высотой растений // Науч.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства. 1989. Вып. 191.
- Проблема доноров в селекции растений. СПб.: ВНИИ растениеводства, 1994. 128 с.
- Генетический анализ количественных признаков для решения задач селекции растений // Генетика. 1994. Т. 30. № 10. С. 1317–1325.
- Vavilov's institute collection of wheats and *Aegilops* provides global food security // Diversity. 1994. V. 10. № 3.
- О создании генетической коллекции пшеницы // Селекция и семеноводство. 1996. № 3/4. С. 2–9. (Соавторы Митрофанова О.П., Зуев Е.В.).
- The diversity of *Triticum dicoccum* Schuebl. for use in cool, wet regions of Europe (Workshop Small grain cereals and pseudo-cereals: Copenhagen, Denmark, February 22–24, 1996. Copenhagen, 1996. (Coauthors A.A. Filatenko, K.A. Funtov).
- Исходный материал для создания серии почти изогенных линий мягкой пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Генетика. 1997. Т. 33. № 4. С. 501–511. (Соавторы Кошкин В.А., Матвиенко И.И.).
- Impact of genetic resources on wheat breeding // Euphytica. 1998. № 100. P. 295–303.
- Влияние фотопериода и генов *Ppd* на морфофизиологические признаки гомозиготных линий пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Докл. РАСХН. 1998. № 4. (Соавторы Кошкин В.А., Матвиенко И.И.).
- Пополнение, сохранение в живом виде и изучение мировой коллекции пшеницы, эгилопса и тритикале: (Метод. указания). СПб.: ВИР, 1999. 82 с. (Соавторы Удачин Р.А., Зуев Е.В., Филатенко А.А. и др.).
- Академик ВАСХНИЛ Владимир Филимонович Дорофеев (1919–1987). СПб.: ВИР, 1999. (Соавтор Чикида Н.Н.) (Серия «Люди науки»).
- Менделевский подход к описанию наследования количественных различий (монография). Луганск: Элтон-2, 2000. (Соавторы Соколов И.Д., Соколова Т.И., Криничная Н.В.).
- Wheat pool of European Russia // The world wheat book: a history of wheat breeding / Eds A.P. Bonjean, W.J. Angus. Paris, Lavoisier Publishing, 2001.
- О перспективах селекции голозерной полбы // Пшеница и тритикале: материалы конференции «Зеленая революция П.П. Лукьяненко». Краснодар: Советская Кубань, 2001.
- Влияние генов *Ppd* на фитохром, фотопериодическую чувствительность и развитие растений изогенных линий пшеницы // Докл. РАСХН. 2004. № 1. (Соавторы Кошкин В.А., Лискер И.С., Косарева И.А., Драгавцев В.А.).
- Принципы поиска, создания и использования доноров ценных признаков в селекции растений // Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб.: ВИР, 2005. С. 189–205.
- Тритикале – перспективная культура для Северо-Запада // Сельскохозяйственные вести. 2007. № 2(69). С. 25.
- Продукты опытных помолов зерна пленчатых и голозерных образцов полбы // Хлебопродукты. 2007. № 7. С. 47–49. (Соавторы Юков В.В., Лихачева Е.И.).
- Изменение состава спектров глиаина в процессе создания сорта яровой тритикале Золотой гребешок // Тритикале России: Тр. секции тритикале РАСХН (селекция, агротехника, использование сырья из тритикале). Ростов-на-Дону, 2008. С. 158–165. (Соавторы Пенева Т.И., Конарев А.В.).

О.П. Митрофанова

Заведующая отделом генетических ресурсов пшеницы ВИР, Санкт-Петербург

Информационное письмо № 1**ПЯТЫЙ СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ
Москва, 21–27 июня 2009 г.**

Пятый съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров состоится в Москве с 21 по 27 июня 2009 г. на базе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН и Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Председатель Оргкомитета: академик РАН В.К. Шумный
Зам. председателя: чл.-корр. РАН Н.К. Янковский
Зам. председателя: академик РАМН Е.К. Гинтер
Зам. председателя: академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов
Зам. председателя: академик РАСХН И.А. Тихонович
Ученый секретарь: д.б.н. И.В. Голденкова-Павлова

Председатель Программного комитета: академик РАН С.В. Шестаков
Зам. председателя: чл.-корр. РАН И.А. Захаров-Гезехус
Зам. председателя: академик РАН Н.А. Колчанов

Председатель Рабочего комитета: чл.-корр. РАН Н.К. Янковский
Зам. председателя: д.б.н., проф. В.В. Зинченко
Зам. председателя: к.б.н. В.А. Мысина

Научная программа Съезда будет включать пленарные лекции (по приглашению Оргкомитета), секционные доклады (по представлению Программного комитета Съезда), стендовые сообщения, мини-симпозиумы, круглые столы, вечерние лекции (по решению Оргкомитета) по следующим научным направлениям:

1. Генетика человека
 - этногенетика, генетика народонаселения
 - медицинская генетика
2. Геномика, геноинформатика
3. Генетическая инженерия
4. Генетика и селекция животных
5. Генетика и селекция растений
6. Генетика и селекция микроорганизмов
7. Популяционная и экологическая генетика
 - популяционная генетика
 - экологическая генетика, симбиогенетика
 - мутагены и генотоксикология
8. Молекулярные механизмы генетических процессов
9. Цитогенетика
10. Генетика развития
 - генетика развития животных
 - генетика развития растений
11. Нейрогенетика и генетика поведения

12. Эволюционная генетика
13. Геномный и генный полиморфизм
14. Иммуногенетика

Для участия в работе Съезда необходимо до 15 декабря 2008 г. заполнить и переслать заявку об участии (форма заявки прилагается) и до 15 февраля 2009 г. подготовить и отправить тезисы по адресу (с пометкой “Съезд ВОГиС”): e-mail: congress_vogis@vigg.ru

Правила оформления тезисов

Тезисы докладов представляются в электронной форме. Объем тезисов – одна страница текста, набранного в редакторе Microsoft Word, без переносов, отступ по 2,5 см с каждой стороны, шрифт Times New Roman Суг 12 пт, межстрочный интервал одинарный, выравнивание по ширине. Название организации не сокращается. Фамилия докладчика выделяется подчеркиванием. В конце тезисов приводится адрес для переписки. Предпочтительна отправка тезисов в электронном виде по электронной почте как прикрепленный файл.

Образец:

НАЗВАНИЕ ТЕЗИСОВ

[1 пустая строка]

И.И. Иванов¹, Н.П. Петров²

[1 пустая строка]

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,

[2 пустые строки]

Текст тезисов

Адрес для переписки: факс: (499) 939-11-15, e-mail: ivanov@genet.msu.ru или e-mail: petrov@vigg.ru

Будут приниматься только одни тезисы от одного автора, где он является первым автором, соавторство в других тезисах (не более трех) допускается.

Оргвзнос для участия в работе Съезда:

2000 рублей – для членов ВОГиС

300 рублей – для аспирантов и студентов членов ВОГиС

3000 рублей – для остальных участников.

Информация о перечислении взносов, программе пленарных заседаний, секций и стендовых сообщений (после рассмотрения присланных тезисов), круглых столах, мини-симпозиумах, вечерних лекциях, бронировании гостиниц будет представлена во втором Информационном письме.

Ключевые даты:

До 15 декабря 2008 г. – прием заявок

До 15 февраля 2009 г. – прием тезисов

До 30 апреля 2009 г. – оплата оргвзноса

21 июня 2009 г. – регистрация участников Съезда

22 июня 2009 г. – открытие Съезда

27 июня 2009 г. – закрытие Съезда

Оплата членских взносов и оформление членства ВОГиС будут проводиться в региональных отделениях ВОГиС, информация о которых (руководители, адреса) размещена на сайте <http://www.vogis.org/vogis.php?p=regions>

С уважением
Президент ВОГиС, академик В.К.Шумный

**РЕГИСТРАЦИОННАЯ ФОРМА
участника Пятого Съезда ВОГиС**

Фамилия	
Имя	
Отчество	
Дата рождения	
Страна	
Адрес (места работы)	
Организация (место работы)	
Подразделение	
Должность	
Ученая степень	
Ученое звание	
Рабочий /домашний телефон	
Факс	
e-mail	
№ и название научного направления, в работе которого Вы планируете принять участие	
Название предполагаемых тезисов	
Адрес для переписки	
Указать планируемую форму участия (очная или заочная)	
Необходимость гостиницы для проживания в Москве	

Журнал «Информационный вестник ВОГиС» включен ВАК Минобрнауки России в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (по биологическим наукам, на соискание доктора наук). (Редакция, апрель 2008 г.: <http://vak.ed.gov.ru>)

Журнал «Информационный вестник ВОГиС» включен в федеральный почтовый Объединенный каталог «ПРЕССА РОССИИ». Персональный подписной индекс № 42153.

Отредактировано и подготовлено к печати
в редакционно-издательском отделе ИЦиГ СО РАН

Редакторы: А.А. Ончукова, И.Ю. Ануфриева
Дизайн: А.В. Харкевич
Компьютерная графика: А.В. Харкевич, Т.Б. Коняхина
Компьютерная верстка: Т.Б. Коняхина, Н.С. Глазкова

Подписано в печать 2.12.2008 г.
Формат бумаги 60×84 1/8. Усл.-печ. л. 26,92. Уч.-изд. л. 28,94
Тираж 400. Заказ 419.

Отпечатано в типографии ГУ «Издательство СО РАН»
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2