
БАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

ОСНОВАН В 1997 г.

Том 18

3

Сентябрь 2014

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

FOUNDED IN 1997

Vol. 18

3

September 2014

«Вавиловский журнал генетики и селекции» / «Vavilov Journal of Genetics and Breeding» до 2011 г. выходил под названием «Информационный вестник ВОГиС» / «The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists».

«Вавиловский журнал генетики и селекции» 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).

(Редакция 17 июня 2011 г.: <http://vak.ed.gov.ru>)

«Вавиловский журнал генетики и селекции» включен в федеральный почтовый Объединенный каталог «ПРЕССА РОССИИ».

Персональный подписной индекс № 42153.

Адрес редакции:

«Вавиловский журнал генетики и селекции»,
ИЦиГ СО РАН,
Проспект Академика Лаврентьева, 10,
Новосибирск, 630090

Факс: (383) 3331278

e-mail: vavilov_journal@bionet.nsc.ru

Ответственный секретарь редакции:

С.В. Зубова,

тел. 363-4977 *5415

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-45870
выдано Федеральной службой по надзору в сфере
связи, информационных технологий и массовых
коммуникаций 20 июля 2011 г.

При перепечатке материалов ссылка на журнал
обязательна.

© Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт цитологии и
генетики Сибирского отделения Российской
академии наук, 2014

© Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014

© Сибирское отделение Российской академии
наук, 2014

Содержание

ИТОГИ VI СЪЕЗДА БАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ	434
<i>Р.А. Максютов, Е.В. Гаврилова, Т.С. Непомнящих, У.Н. Роцкая, П.С. Лощенова, Н.Г. Колосова, О.И. Синицина, С.Н. Щелкунов</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КРЫС ЛИНИЙ WISTAR И OXYS ПИТОМНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИЦИГ СО РАН	437
<i>О.Ф. Потапова, М.А. Потапов, В.В. Панов, В.И. Евсиков</i>	
ЭТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ОКРАСОЧНОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ПОПУЛЯЦИИ КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ (<i>MYODES RUTILUS</i>) ИЗ ОКРЕСТНОСТЕЙ НОВОСИБИРСКА	446
<i>Б.А. Малярчук, Г.А. Денисова, М.В. Деренко</i>	
МОЛЕКУЛЯРНОЕ ДАТИРОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГОРНОСТАЯ (<i>MUSTELA ERMINEA</i>) ПО ДАННЫМ ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНА <i>ND2</i> МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА	456
<i>Н.С. Юдин, Л.А. Васильева, В.А. Белявская, Р.Б. Айтназаров, П.Н. Смирнов, М. Хитон, У. Легрейд, Г.В. Орлова, А.Г. Ромащенко, М.И. Воевода</i>	
СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ ДНК ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РОССИИ ДЛЯ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	463
<i>Р.О. Трапезов, А.С. Пилипенко, В.И. Молодин</i>	
РАЗНООБРАЗИЕ ЛИНИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ГЕНОФОНДЕ НАСЕЛЕНИЯ ПРИБАЙКАЛЬЯ ЭПОХИ НЕОЛИТА И РАННЕЙ БРОНЗЫ	469
<i>О.Э. Костерин, В.С. Богданова</i>	
СТАДИЯ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА, ОПТИМАЛЬНАЯ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ОПЫЛЕНИЯ, ВАРИРУЕТ В РОДЕ ГОРОХ (<i>PISUM L.</i>)	478
<i>С.В. Асбаганов, Е.В. Кобозева, А.В. Агафонов</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯДОЛЕЙ И ISSR-МАРКЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГИБРИДОВ МЕЖДУ <i>SORBUS SIBIRICA</i> HEDL. И <i>SORBOCOTONEASTER POZDNIJAKOVII</i> POJARK.	486

<i>Е.М. Лисицын, О.С. Амунова</i> ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЮМОУСТОЙЧИВОСТИ	497
<i>В.Г. Захаров, В.В. Сюков, О.Д. Яковлева</i> СОПРЯЖЕННОСТЬ АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПОЛЕГАНИЮ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ	506
<i>Х.Н. Рустамов</i> НОВЫЕ ОБРАЗЦЫ <i>TRITICUM COMPACTUM</i> Host. ИЗ НАХЧЫВАНСКОЙ АВТОНОМНОЙ РЕСПУБЛИКИ	511
<i>В.В. Сюков, С.Е. Поротькин</i> ГЕНЕТИКА УСТОЙЧИВОСТИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) К ПЫЛЬНОЙ ГОЛОВНЕ (<i>USTILAGO TRITICI</i> (PERS.) JENS) (ОБЗОР)	517
<i>Е.Т.Ильницкая, С.В. Токмаков, И.И. Супрун</i> МИКРОСАТЕЛЛИТНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ДОНСКИХ АБОРИГЕННЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА (<i>VITIS VINIFERA</i> L.)	523
<i>Е.М. Алёхина, Л.Д. Чалая, Т.Г. Причко</i> ИСТОЧНИКИ ОСНОВНЫХ ХОЗЯЙСТВЕННО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ В СЕЛЕКЦИИ ЧЕРЕШНИ	530
<i>Е.Н. Седов, М.А. Макаркина, З.М. Серова</i> ГЕНОФОНД ЯБЛОНИ И СЕЛЕКЦИЯ НА УЛУЧШЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ	540
<i>В.Г. Потанин, А.Ф. Алейников, П.И. Стёпочкин</i> НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ СОРТОВ РАСТЕНИЙ	548
<i>Ю.А. Гисматулина, В.В. Будаева, С.Г. Вепрев, Г.В. Сакович, В.К. Шумный</i> ОСОБЕННОСТИ ЦЕЛЛЮЛОЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЧАСТЕЙ МИСКАНТУСА СОРТА СОРАНОВСКИЙ	553
<i>О.В. Байбакова, Е.А. Скиба</i> БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОСИНТЕЗА ЭТАНОЛА ИЗ МИСКАНТУСА	564
<i>И.В. Сеферова, М.А. Вишнякова</i> ВКЛАД СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОПЫТНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ КИТАЙСКО-ВОСТОЧНОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГИ В ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СОИ ВИР И В РАЗВИТИЕ ЕЕ СЕЛЕКЦИИ В СССР	572
<i>О.О. Клеткина, В.Т. Синеговская</i> НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ ВАВИЛОВ НА АМУРСКОЙ ОБЛАСТНОЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ	578
<i>Я.М. Галл</i> ДЭВИД ЛЭК: ДВЕ ВЕРСИИ ВИДООБРАЗОВАНИЯ, ИЛИ ОТ НЕЙТРАЛИЗМА К АДАПТАЦИОНИЗМУ ...	585
ПРОФЕССОР ГЕННАДИЙ ИВАНОВИЧ НАУМОВ: 70 ЛЕТ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ	599

Content

RESULTS OF THE 6 th CONGRESS OF VAVILOV SOCIETY OF GENETICISTS AND BREEDERS	434
<i>R.A. Maksyutov, E.V. Gavrilova, T.S. Nepomniashchikh, U.N. Rotskaya, P.S. Loshchenova, N.G. Kolosova, O.I. Sinitsyna, S.N. Shchelkunov</i>	
COMPARISON OF THE COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCES OF MITOCHONDRIAL DNA FROM WISTAR AND OXYS RAT STRAINS MAINTAINED AT THE INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS SB RAS	437
<i>O.F. Potapova, M.A. Potapov, V.V. Panov, V.I. Evsikov</i>	
ETHOLOGICAL MECHANISMS OF THE MAINTENANCE OF COAT COLOR POLYMORPHISM IN THE POPULATION OF THE NORTHERN RED-BACKED VOLE (<i>MYODES RUTILUS</i>) ROUND NOVOSIBIRSK	446
<i>B.A. Malyarchuk, G.A. Denisova, M.V. Derenko</i>	
MOLECULAR DATING OF INTRASPECIFIC DIFFERENTIATION OF THE STOAT (<i>MUSTELA ERMINEA</i>) BASED ON THE VARIABILITY OF THE MITOCHONDRIAL ND2 GENE	456
<i>N.S. Yudin, L.A. Vasil'eva, V.A. Belyavskaya, R.B. Aitnazarov, P.N. Smirnov, M. Heaton, W.W. Laegreid, G.V. Orlova, A.G. Romashchenko, M.I. Voevoda</i>	
DNA PANEL DESIGN FOR GENOMIC STUDIES IN RUSSIAN CATTLE BREEDS	463
<i>R.O. Trapezov, A.S. Pilipenko, V.I. Molodin</i>	
MITOCHONDRIAL DNA DIVERSITY IN THE GENE POOL OF THE NEOLITHIC AND EARLY BRONZE AGE CISBAIKALIAN HUMAN POPULATION	469
<i>O.E. Kosterin, V.S. Bogdanova</i>	
PEA (<i>PISUM</i> L.) ACCESSIONS DIFFER IN THE STAGE OF FLOWER DEVELOPMENT BEST FOR POLLINATION	478
<i>S.V. Asbaganov, E.V. Kobozeva, A.V. Agafonov</i>	
APPLICATION OF THE ELECTROPHORESIS OF COTYLEDON PROTEINS AND ISSR-MARKERS TO THE IDENTIFICATION OF HYBRIDS BETWEEN <i>SORBUS SIBIRICA</i> HEDL. AND <i>SORBOCOTONEASTER</i> <i>POZDNIJAKOVII</i> POJARK.	486

<i>E.M. Lisitsyn, O.S. Amunova</i>	
GENETIC VARIABILITY OF SPRING COMMON WHEAT VARIETIES IN ALUMINUM TOLERANCE	497
<i>V.G. Zakharov, V.V. Syukov, O.D. Yakovleva</i>	
CORRELATION OF MORPHOANATOMICAL TRAITS WITH LODGING RESISTANCE IN SPRING WHEAT IN THE MIDDLE VOLGA REGION	506
<i>Kh.R. Rustamov</i>	
NEW SAMPLES OF <i>TRITICUM COMPACTUM</i> HOST. FROM NAKHCHIVAN AUTONOMOUS REPUBLIC.....	511
<i>V.V. Syukov, S.E. Porotkin</i>	
GENETICS OF COMMON WHEAT (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) RESISTANCE TO LOOSE SMUT (<i>USTILAGO TRITICI</i> (PERS.) JENS.) (REVIEW)	517
<i>E.T. Ilnitskaya, S.V. Tokmakov, I.I. Suprun</i>	
MICROSATELLITE GENOTYPING OF DON LOCAL GRAPE (<i>VITIS VINIFERA</i> L.) VARIETIES	523
<i>E.M. Alekhina, L.D. Chalaya, T.G. Prichko</i>	
DONORS OF COMMERCIALY VALUABLE TRAITS FOR SWEET CHERRY BREEDING	530
<i>E.N. Sedov, M.A. Makarkina, Z.M. Serova</i>	
APPLE VARIETAL POOL AND BREEDING FOR THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF FRUIT	540
<i>W.G. Potanin, A.F. Aleinikov, P.I. Steepochkin</i>	
A NEW APPROACH TO ESTIMATION OF THE ECOLOGICAL PLASTICITY OF PLANT VARIETIES	548
<i>Yu.A. Gismatulina, V.V. Budaeva, S.G. Veprev, G.V. Sakovich, V.K. Shumny</i>	
CELLULOSE FROM VARIOUS PARTS OF SORANOVSKII MISCANTHUS	553
<i>O.V. Baibakova, E.A. Skiba</i>	
BIOTECHNOLOGICAL VIEW OF ETHANOL BIOSYNTHESIS FROM MISCANTHUS	564
<i>I.V. Seferova, M.A. Vishnyakova</i>	
ROLE OF AGRICULTURAL INSTITUTIONS OF CHINESE-EASTERN RAILWAY IN THE FORMATION OF THE SOYBEAN COLLECTION AT THE VAVILOV INSTITUTE OF PLANT INDUSTRY AND ITS BREEDING IN THE USSR	572
<i>O.O. Kletkina, V.T. Sinegovskaya</i>	
NIKOLAI IVANOVICH VAVILOV AT THE AMUR AGRICULTURAL EXPERIMENTAL STATION	578
<i>Ya.M. Gall</i>	
DAVID LACK: TWO VERSIONS OF SPECIATION, FROM NEUTRALISM TO THE ADAPTIVE APPROACH	585
PROFESSOR GENNADIY IVANOVICH NAUMOV: THE 70 th ANNIVERSARY OF THE BIRTH	599

ИТОГИ VI СЪЕЗДА БАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ

VI съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) прошел в период с 15 по 20 июня 2014 г. в Ростове-на-Дону. Основные организаторы съезда: Вавиловское общество генетиков и селекционеров, Научный совет по генетике и селекции РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН, Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский филиал ИОГен РАН, Медико-генетический научный центр РАМН, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, Южный научный центр РАН, Новосибирский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, кафедра генетики МГУ, кафедра цитологии и генетики НГУ, Южно-Российский институт – филиал РАНХиГС, ООО «Научный сервис», ООО «Конгресс-бюро “Прогресс”». Съезд прошел при поддержке Министерства образования и науки РФ и Российского фонда фундаментальных исследований.

В рамках съезда были заслушаны и обсуждены результаты работы ведущих исследователей и молодых ученых из России и сопредельных государств по ключевым направлениям биологии, наиболее актуальным в мировой науке: молекулярной генетике, геномике и протеомике, клеточной биологии, включая вопросы биологии стволовых клеток, по генетике развития, генетике человека, нейрогенетике и медицинской генетике, генетике растений, животных и микроорганизмов, селекции, биотехнологии и биологической эволюции.

В рамках съезда были организованы круглые столы: «Генетическое образование», «Социальные и этические аспекты генетики, биобезопасность», «Генетические ресурсы» и курсы повышения квалификации научно-педагогических кадров по генетике с основами селекции, медицинской генетики и эволюции.

Работа съезда получила широкое освещение в средствах массовой информации: в преддверии съезда, в период его проведения и по результатам его работы вышло около 50 публикаций в печатных и электронных СМИ.

Всего для участия в съезде зарегистрировались 914 участников, в том числе 194 (21 %) – участники моложе 35 лет. Очно смогли принять участие более 400 человек из России, Беларуси, Украины, Казахстана, Великобритании и Германии. На съезде присутствовали 12 академиков РАН, 13 членов-корреспондентов РАН, РАСХН и РАМН и 1 член-корреспондент НАН Беларуси. Научная программа включала 8 пленарных и 27 симпозиальных заседаний. Было заслушано 36 пленарных докладов, 207 устных сообщений (около половины из которых было сделано молодыми учеными). Научная программа и тезисы участников опубликованы на сайте съезда (программа: http://conf.nsc.ru/vogis2014/ru/scientific_program; тезисы: <http://conf.nsc.ru/vogis2014/ru/proceedings>). 34 молодых ученых были награждены дипломами I, II и III степени за лучшие устные доклады по шести различным направлениям генетики. За лучшие стендовые доклады были награждены дипломами 10 участников. В оценке устных докладов и стендовых сообщений приняли участие более 30 экспертов. Списки победителей приведены на сайте съезда (http://conf.nsc.ru/vogis2014/ru/vogis2014_winners).

В день открытия съезда был заслушан отчетный доклад Президиума, представленный президентом ВОГиС академиком РАН В.К. Шумным.

На момент проведения съезда Вавиловское общество генетиков и селекционеров включало 28 региональных отделений общей численностью 2 425 членов. На съезде было принято решение о создании 29-го отделения – Владикавказского.

В период между V и VI съездами ВОГиС происходило совершенствование научно-организационной деятельности общества, поиск новых форм его работы. Одной из важных форм работы ЦС ВОГиС было проведение совместных Пленумов ЦС ВОГиС и Научного совета по генетике и селекции РАН, на которых заслушивались научные доклады по современным проблемам генетики и селекции, обсуждались вопросы генетического образования в России, вопросы, касающиеся развития и повышения рейтинга профильных российских журналов.

ЦС ВОГиС активно участвовал в научно-издательской деятельности. Важным достижением отчетного периода явилось регулярное издание «Вавиловского журнала генетики и селекции» (до 2011 г. журнал издавался под названием «Информационный вестник ВОГиС»). С 2011 г. с периодичностью шесть раз в год стал издаваться «Russian Journal of Genetics: Applied Research» (цитируется в базе SCOPUS), который включает англоязычные версии статей, опубликованных в «Вавиловском журнале генетики и селекции» (главный редактор – академик В.К. Шумный, президент ВОГиС с 2004 г. по 2014 г., в настоящее время – вице-президент ВОГиС) и в журнале «Экологическая генетика» (главный редактор – академик С.Г. Инге-Вечтомов, президент ВОГиС с 1994 г. по 2004 г., в настоящее время – вице-президент ВОГиС). При активном участии членов ЦС ВОГиС в отчетный период также успешно развивалась деятельность профильных журналов «Генетика» (главный редактор – академик С.В. Шестаков, член Президиума ВОГиС) и «Медицинская генетика» (главный редактор – академик Е.К. Гинтер, вице-президент ВОГиС).

С участием ВОГиС за отчетный период проведено около 60 симпозиумов и совещаний в различных городах России, в том числе международных. Ряд конференций проходит на регулярной основе, в частности международные конференции «Bioinformatics of genome regulation and structure\Systems biology» и «Plant genetics, genomics and biotechnology» проходят на базе ИЦиГ СО РАН и Новосибирского отделения ВОГиС; международный симпозиум «Modern Achievements in population, evolutionary and ecological genetics (MAPEEG)» – на

базе Дальневосточного отделения ВОГиС; конференция по кариологии, кариосистематике и молекулярной систематике растений и школа для молодых ученых памяти Г.А. Левитского «Хромосомы и эволюция» – на базе Санкт-Петербургского отделения ВОГиС.

Большое внимание уделялось усилению взаимодействия ВОГиС с Российской академией наук и вузами по проблемам генетики и селекции. В частности, были организованы курсы повышения квалификации научно-педагогических кадров по генетике с основами селекции, медицинской генетики и эволюции (Новосибирск, 2013 г.). В отчетный период на базе Санкт-Петербургского, Московского и Саратовского отделений ВОГиС был проведен цикл научных конференций, посвященных 125-летию со дня рождения Николая Ивановича Вавилова.

В отчетный период высокая награда Российской академии наук – Золотая медаль им. Н.И. Вавилова – была присуждена члену Президиума ВОГиС, члену-корреспонденту РАН И.А. Захарову-Гезехусу (в 2012 г.). На VI съезде ВОГиС были вручены дипломы почетного члена ВОГиС члену-корреспонденту РАН И.А. Захарову-Гезехусу (г. Москва), академику РАН С.В. Шестакову (г. Москва) и доктору биологических наук В.С. Тырнову (г. Саратов). Академик С.В. Шестаков принимает активное участие в деятельности ВОГиС со дня основания Всесоюзного общества генетиков и селекционеров (с 1965 г.). При активном участии доктора биологических наук В.С. Тырнова в 1994 г. на базе Саратовского государственного университета был организован первый съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, которое с 1992 г. является преемником Всесоюзного общества генетиков и селекционеров.

Дипломы почетного президента были вручены на VI съезде ВОГиС двум первым президентам Вавиловского общества генетиков и селекционеров: академику С.Г. Инге-Вечтомову (президент в 1994–2004 гг.) и академику В.К. Шумному (президент в 2004–2014 гг.).

Решением VI съезда президентом ВОГиС на следующий срок (2014–2019 гг.) избран академик РАН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяй-

ственной микробиологии (г. Санкт-Петербург) И.А. Тихонович

Решением VI съезда избран новый состав Центрального совета ВОГиС (68 членов), в том числе 16 членов Президиума ЦС ВОГиС, из которых 7 избраны вице-президентами. Первыми вице-президентами стали руководители двух крупнейших генетических институтов России – директор Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) академик РАН Н.А. Колчанов и директор Института общей генетики РАН (г. Москва) член-корреспондент РАН Н.К. Янковский. Полный список членов президиума и членов ЦС ВОГиС представлен на сайте ВОГиС (<http://www.vogis.org/vogis.php?p=sostavcs>).

В ближайшие пять лет усилия ЦС ВОГиС будут направлены на:

1. Определение на вневедомственном уровне стратегии развития генетики и селекции в нашей стране. В связи с начавшейся год назад реформой Российской академии наук и объединением трех академий, РАН, РАМН и РАСХН, именно ВОГиС, традиционно объединяющее представителей этих академий, может стать важным звеном в экспертной оценке приоритетных направлений развития генетики и селекции.

2. Расширение информационного поля для свободного общения генетиков и селекционеров всех ведомств – академий, вузов и министерств: выпуск научных журналов, работа межрегионального (www.vogis.org) и региональных интернет-порталов ВОГиС.

3. Подготовка и проведение совместных научных мероприятий по всем направлениям современной биологии, так или иначе связанной с генетикой и селекцией, в том числе международных.

4. Усиление образовательной деятельности ВОГиС: подготовка учебников для средней и высшей школы, проведение курсов повышения квалификации научно-педагогических работников по направлениям «генетика» и «селекция».

5. Популяризация достижений генетиков и селекционеров: подготовка научно-популярных и образовательных статей по генетике и селекции для размещения в научно-популярных журналах и на страницах СМИ; участие в познавательных телепередачах.

Следующий съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (VII съезд) состоится в 2019 г. Место проведения VII съезда будет обсуждено и утверждено на ближайшем заседании Центрального совета ВОГиС.

УДК 575.86+599.323.4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КРЫС ЛИНИЙ WISTAR И OXYS ПИТОМНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИЦИГ СО РАН

© 2014 г. Р.А. Максютлов¹, Е.В. Гаврилова¹, Т.С. Непомнящих¹, У.Н. Роцкая²,
П.С. Лощенова², Н.Г. Колосова², О.И. Синицина², С.Н. Щелкунов^{1,2}

¹ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
пос. Кольцово, Россия, e-mail: maksyutov_ra@vector.nsc.ru;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия, e-mail: snshchel@vector.nsc.ru

Поступила в редакцию 17 июля 2014 г. Принята к публикации 3 сентября 2014 г.

Исследованы полные нуклеотидные последовательности митохондриальной ДНК крыс линии Wistar и преждевременно стареющих крыс линии OXYS, чувствительных к катарактогенному эффекту галактозы, из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦИГ СО РАН (нуклеотидные последовательности депонированы в генбанк. Показано, что крысы линии OXYS (ИЦИГ) имеют дополнительные две уникальные нуклеотидные замены по сравнению с крысами линии Wistar (ИЦИГ), не встречающиеся в других известных нуклеотидных последовательностях митохондрий крыс, при этом обе нуклеотидные замены не приводят к аминокислотным заменам, поэтому все фенотипические различия в данных линиях определяются исключительно различиями в ядерной ДНК. Сравнительный анализ показал, что крысы линии Wistar (ИЦИГ) имеют значительное количество нуклеотидных замен в митохондриальной ДНК по сравнению с группой линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar, что опровергает возможное отношение крыс линии Wistar (ИЦИГ) к исходной линии крыс Wistar или ее потомкам. Высказано предположение о том, что линия крыс Sprague Dawley, по крайней мере по женскому пути, является прародителем крыс линии Wistar (ИЦИГ).

Ключевые слова: крысы линии Wistar и OXYS; митохондриальная ДНК; степень родства.

ВВЕДЕНИЕ

Крысы *Rattus norvegicus* имеют широкое применение в качестве лабораторных животных и представляют собой отличную модель для исследования восприимчивости к раку, гипертензии, ожирению, диабету, аутоиммунным и другим заболеваниям. В Институте цитологии и генетики СО РАН в 1970-е гг. в результате селекции и инбридинга крыс Wistar, чувствительных к катарактогенному эффекту галактозы, была создана линия преждевременно стареющих крыс OXYS (Соловьева и др., 1975). В пяти первых поколениях развитие катаракты провоцировали

нагрузкой галактозой, в дальнейшем проводился отбор по ранней спонтанной катаракте, сцепленно с которой животные унаследовали синдром преждевременного старения. Помимо катаракты (Колосова и др., 2003б), данный синдром проявляется в ускоренном старении мозга (Колосова и др., 2003а; Kolosova *et al.*, 2009) с признаками болезни Альцгеймера (Stefanova *et al.*, 2014а) и раннем развитии ассоциированных со старением заболеваний: ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации у людей, остеопороза, артериальной гипертензии (Колосова и др., 2003а; Bobko *et al.*, 2005; Markovets *et al.*, 2011а, б; Kozhevnikova *et al.*,

2013). Модель успешно используется для исследования механизмов развития этих заболеваний, оценки эффективности новых способов их профилактики и лечения (Markovets *et al.*, 2011a, b; Kolosova *et al.*, 2012a, b; Muraleva *et al.*, 2012; Stefanova *et al.*, 2014b).

Предполагается, что ведущую роль в патогенезе преждевременного старения крыс OXYS играют нарастающие с возрастом нарушения структуры и функций митохондрий – изменение соотношения цитохромов внутренней мембраны, снижение активности F_1F_0 -АТФ-синтетазы, дыхательного контроля и скорости фосфорилирования, снижение объемной и поверхностной плотности митохондрий, появление митохондрий с лизисом матрикса и деструкцией крист (Шабалина и др., 1995; Колосова и др., 2001; Vays *et al.*, 2014).

Большинство вновь создаваемых линий крыс уникальны по фенотипическим маркерам, при этом различия на генном уровне остаются до конца не изученными. Существуют сотни инбредных линий крыс с неясной историей происхождения и последующей эволюции (Canzian, 1997), что также вносит сложности в построение генных карт мутаций. Определенный вклад в фенотипические различия дают мутации, расположенные в митохондриальной ДНК (мтДНК). Известно, что сотни мутаций в тРНК, рРНК, белках, кодируемых генами мтДНК, связаны с различными заболеваниями человека (Brandon *et al.*, 2005). Логично было предположить, что феномен ускоренного старения, наблюдаемый у крыс линии OXYS, может быть связан с наследуемыми изменениями митохондриального генома.

Цель настоящего исследования – оценить возможный вклад мтДНК в фенотипические различия между крысами OXYS и Wistar из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН. Для этого на основе расшифровки и анализа полных нуклеотидных последовательностей мтДНК нами было оценено наличие аминокислотных замен в белках, кодируемых генами, расположенными в мтДНК сравниваемых линий крыс. Другой целью работы было установление родства линии Wistar (ИЦиГ) с другими широко используемыми в медико-биологических исследованиях линиями крыс *Rattus norvegicus*, что

важно для корректного сравнения результатов экспериментов, проводимых на различных близкородственных линиях крыс. Для выявления близкородственных линий крыс и, как следствие, происхождения линии Wistar (ИЦиГ) нами был произведен сравнительный анализ всех известных на настоящий момент полноразмерных мтДНК разных линий крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Линии крыс

Крысы линий Wistar (ИЦиГ) (Wistar_ICG) и OXYS (ИЦиГ) (OXYS_ICG) получены из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН.

Для сравнения использовали крыс линии Wistar (Пушино) (Wistar_Pushino) из SPF (specified pathogen free) питомника лабораторных животных «Пушино» (Московская область). Эта аутбредная линия крыс была получена компанией Scientific Products Farm Ltd. (предшественник компании «Charles River United Kingdom» (CRUK) из Института WISTAR в 1947 г. В 1975 г. линия была передана из CRUK в питомник CRL, США. В питомник «Пушино» сток поступил из питомника CRL, США в 2001 г. Подробная характеристика линии приведена на сайте <http://www.harlan.com/>.

Выделение тотальной ДНК крыс

Работа выполнена на трехмесячных крысах-самцах линий OXYS и Wistar из Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН и из SPF-питомника лабораторных животных «Пушино». Тотальную ДНК печени пяти животных для каждой линии выделяли из замороженных тканей, хранящихся при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, при помощи набора «Wizard SV Genomic DNA Purification System» (Promega, США) с добавлением протеиназы К в соответствии с рекомендациями производителя. Концентрация выделенной ДНК была измерена спектрофотометрически по поглощению при длине волны 260 нм. Качество препаратов ДНК оценивали, сравнивая поглощение при длинах волн 260 и 280 нм, при этом качественными считали образцы ДНК, для которых $D_{260}/D_{280} \approx 1,8$.

Олигонуклеотидные праймеры для секвенирования митохондриальной ДНК

Конструирование олигонуклеотидных праймеров для амплификации перекрывающихся фрагментов мтДНК и последующего секвенирования и подбор условий реакции выполняли с помощью программы Oligo v.6 (Borland International), используя нуклеотидную последовательность мтДНК крыс линии Wistar (GenBank: X14848.1).

Суммарно 111 разработанных нами праймеров синтезировали на автоматическом синтезаторе ABI-394 (Applied Biosystems, США) в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Амплификация и секвенирование митохондриальной ДНК

Для крыс каждой линии с помощью набора «XL PCR Kit» (Applied Biosystems, США) были получены ПЦР-фрагменты, перекрывающие всю последовательность мтДНК. 50 мкл реакционной смеси содержало 1xXL Buffer II, 200 мкМ dNTP, 1,5 мМ Mg(OAc)₂, по 300 нМ двух олигонуклеотидных праймеров, 2 ед. rTth DNA polymerase, 5 мкл раствора ДНК. ПЦР проводили на приборе «GeneAmp PCR System 9700» (Applied Biosystems, США) по следующему алгоритму: 94 °С – 1 мин, далее 30 циклов: 94 °С – 15 с, 55 °С – 30 с, 68 °С – 6 мин с последующей инкубацией при 72 °С – 10 мин. Очистку ПЦР-фрагментов из агарозного геля проводили при помощи набора «Gel Extraction Kit» (QIAGEN, Германия).

Реакцию секвенирования проводили с использованием набора BigDye 3.1 (Applied Biosystems, США) с последующей очисткой на сефадексе G-50 superfine. Секвенирование проводили по обеим цепям ДНК. Расшифровку первичных данных секвенирования (хроматограмм) проводили с помощью программы Sequencher v.4.0.5 (Gene Codes Corporation, США).

Анализ последовательностей

Полученные нуклеотидные последовательности мтДНК наравне с доступными полными

геномами мтДНК других линий крыс были выровнены с помощью программы ClustalW (Thompson *et al.*, 1994). Дендрограммы были построены без укоренения методом ближайшего соседа (NJ – Neighbor Joining) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4 (Tamura *et al.*, 2007). Для оценки достоверности топологии использовался бутстреп-тест (1000 репликаций) (Felsenstein, 1985). Генетическая дистанция между группами линий и исследуемыми линиями (p-дистанция) подсчитана в программе MEGA версия 4 (Tamura *et al.*, 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК крыс Wistar (ИЦиГ) и OXYS (ИЦиГ)

В результате выполненной работы были определены полные нуклеотидные последовательности мтДНК крыс Wistar (ИЦиГ) (GenBank: JX105355.1) и OXYS (ИЦиГ) (GenBank: JX105356.1). Их размер составил 16309 п.н. Последующий анализ показал, что все доступные полные геномы мтДНК крыс (табл. 1) в построенной дендрограмме распределились в несколько групп линий (рис. 1). Внутри своей группы крысы линии Wistar (ИЦиГ) отличаются от других линий крыс не более чем на 11 нуклеотидных замен. При этом крысы линии Wistar (ИЦиГ) отличаются по одной нуклеотидной замене от крыс *Rattus norvegicus* линии F344 × BN F1 (GenBank: AY769440.1) и по двум нуклеотидным заменам – от крыс *Rattus norvegicus* линии SS/Jr (GenBank: GU997608.1), *Rattus norvegicus* линии SR/Jr (GenBank: GU997611.1), *Rattus norvegicus* линии PVG/OlaHsd (GenBank: FJ919762.1). Если первая нуклеотидная замена является общей для всех линий крыс, то вторая несет различия (идентична для линий SS/Jr и SR/Jr). Крысы линии OXYS (ИЦиГ) отличаются по двум дополнительным уникальным нуклеотидным заменам относительно крыс линии Wistar (ИЦиГ) и, соответственно, всех остальных. При этом обе замены являются незначущими и не приводят к аминокислотным заменам.

Относительно других групп линий крысы линии Wistar (ИЦиГ) имеют от 94 до 112 нуклео-

тидных замен, что соответствует р-дистанции 0,528–0,612 % (табл. 2).

Анализ фрагмента нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК крыс линии Wistar (Пушино)

Для установления степени родства линий Wistar (ИЦиГ) и Wistar (Пушино) нами был

определен фрагмент нуклеотидной последовательности 1839–3205 н мтДНК крыс линии Wistar (Пушино) длиной 1367 п.н. На рис. 2 приведено NJ-дерево, построенное на основе этих данных, а также всех доступных последовательностей из генбанка. В результате было установлено, что крысы линии Wistar (Пушино) не имеют нуклеотидных замен в исследуемом фрагменте мтДНК, в частности относительно

Таблица 1

Названия линий крыс с соответствующими номерами из GenBank

№	Название линии крыс	Номер доступа в GenBank	№	Название линии крыс	Номер доступа в GenBank
1	BBDP/Rhw	FJ919760.1	19	BN/SsNHsdMCW	AY172581.1
2	MNS	HM152028.1	20	Wild/Mcwi	DQ673916.1
3	BBDR/Rhw	FJ919771.1	21	Wild/Tku	DQ673917.1
4	Lew/Ztm	FJ919759.1	22	L4	FJ919764.1
5	LEW/NCrIBR	HM152027.1	23	B	FJ919763.1
6	AS	GU997609.2	24	ACI/Eur	DQ673908.1
7	GH/OmrMcwi	DQ673911.1	25	SS/Jr	GU997608.1
8	MHS/Gib	FJ919770.1	26	SR/Jr	GU997611.1
9	SHR/Hsd/MCO	GU997610.2	27	SS/JrHsd/Mcwi	DQ673914.1
10	SHR/Mol	FJ919768.1	28	FHH/Eur	DQ673910.1
11	SHRSP	FJ919769.1	29	T2DN/Mcwi	DQ673915.1
12	GK/KyoSwe	FJ919766.1	30	F344/NHsd	DQ673909.1
13	GK/Far	DQ673912.1	31	PVG/OlaHsd	FJ919762.1
14	GK/Swe	DQ673913.1	32	F344 × BNF1	AY769440.1
15	WK/Kyoto	FJ919767.1	33	F344/DuCr12Swe	FJ919761.1
16	WKY/NCr1	DQ673907.1	34	Wistar_ICG	JX105355.1
17	Copenhagen	AJ428514.1	35	OXYS_ICG	JX105356.1
18	Wild/Swe	FJ919765.1			

Таблица 2

Генетическая дистанция между линиями/группами линий крыс

	Р-дистанция между средними значениями групп, %						
	Wistar_ICG	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Группа V	Группа VI
Wistar_ICG		0,021	0,593	0,612	0,591	0,528	0,560
Группа I	0,021		0,588	0,606	0,591	0,528	0,556
Группа II	0,593	0,588		0,094	0,559	0,515	0,548
Группа III	0,612	0,606	0,094		0,576	0,535	0,551
Группа IV	0,591	0,591	0,559	0,576		0,566	0,610
Группа V	0,528	0,528	0,515	0,535	0,566		0,522
Группа VI	0,560	0,556	0,548	0,551	0,610	0,522	

Примечание. Обозначения групп представлены на рис. 1.

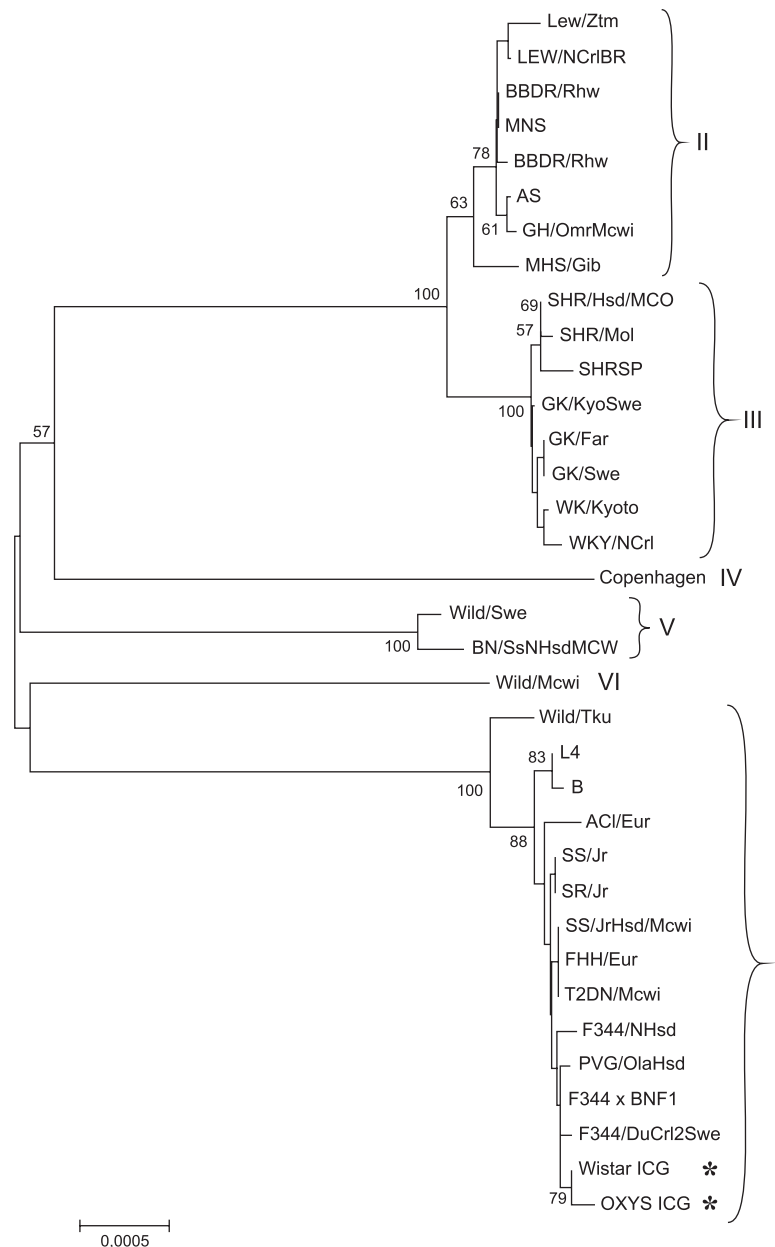


Рис. 1. Дендрограмма 35 линий крыс, построенная на основе полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК с использованием метода ближайшего соседа (NJ) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4.

В узлах ветвей показаны коэффициенты поддержки бутстреп-теста более 50 % (для 1000 псевдореплик). На каждой ветке обозначено название соответствующей линии крыс (табл. 1). * Линии крыс, нуклеотидные последовательности для которых получены в данной работе; римскими цифрами обозначены линии/группы линий, для которых рассчитано генетическое расстояние (табл. 2).

линии GH/OmrMcwi, и отличаются на 1 нуклеотидную замену относительно линий GK/Far, GK/Swe, WKY/NCrI, WK/Kyoto. При этом максимальное количество – 5 нуклеотидных замен – крысы линии Wistar (Пушино) имеют относительно крыс линий SS/Jr, SR/Jr, PVG/OlaHsd, F344 × BN F1 (p-дистанция 0,367 %).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего анализа показали, что 35 линий крыс распределяются в несколько групп (рис. 1). При этом одна из групп представлена линиями крыс WKY/NCrI, WK/Kyoto, GK/Swe, GK/Far, SHRSP, GH/OmrMcwi, полученными от

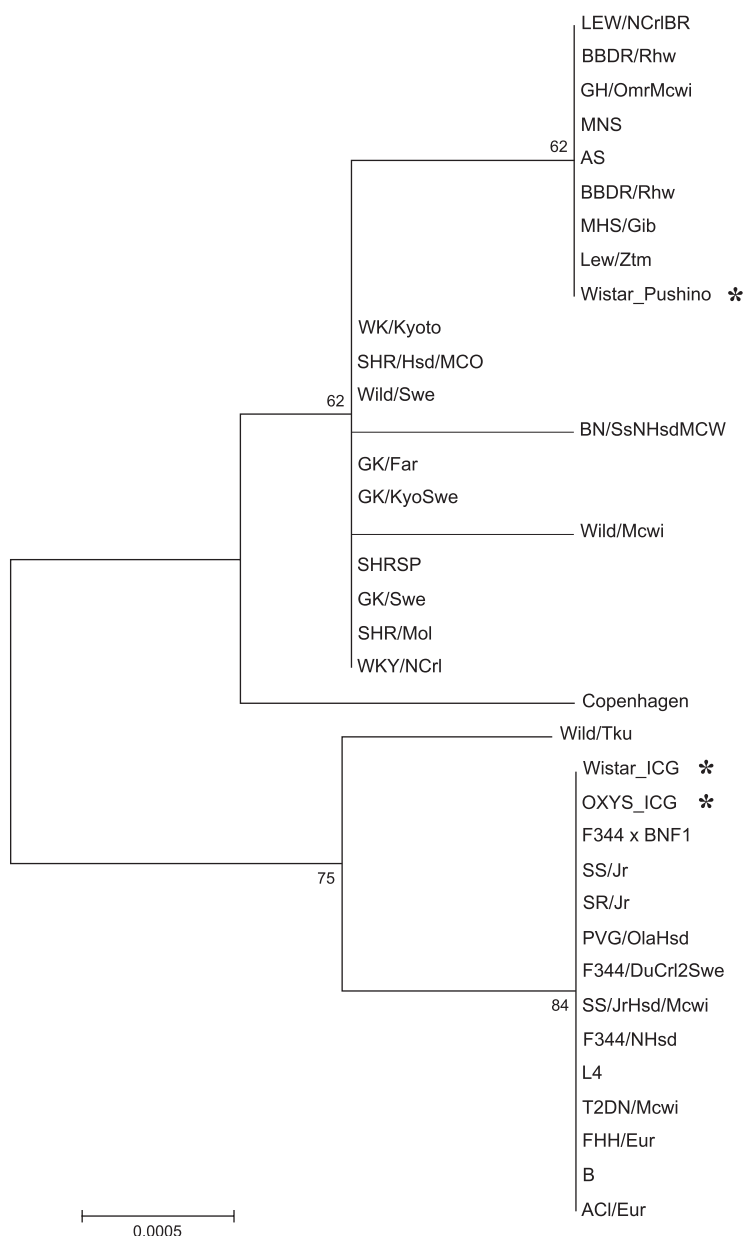


Рис. 2. Дендрограмма 36 линий крыс, построенная на основе фрагмента нуклеотидной последовательности 1839–3205 н митохондриальной ДНК, с использованием метода ближайшего соседа (NJ) при использовании 2-параметровой модели Кимуры в программе MEGA версия 4.

В узлах ветвей показаны коэффициенты поддержки бутстреп-теста более 50 % (для 1000 псевдореплик). На каждой ветке обозначено название соответствующей линии крыс (табл. 2). * Линии крыс, нуклеотидные последовательности для которых получены в данной работе.

аутбредной колонии крыс Wistar в Японии (Canzian, 1997; Schlick *et al.*, 2006). Незначительные различия в нуклеотидных последовательностях мтДНК этих линий (до 6 нуклеотидов внутри данной группы) могут объясняться как разнообразием, присутствовавшим в родительской аутбредной колонии крыс Wistar, так и новыми мутациями, которые могли возникнуть после

создания крыс указанных линий. Исследуемые нами линии крыс Wistar (ИЦиГ) и OXYS (ИЦиГ) принадлежат к другой группе, в которую входят крысы F344 × BN F1, SS/Jr, SR/Jr, PVG/OlaHsd, FHH/Eur, T2DN/Mcwi, ACI/Eur, F344/NHsd. Известно, что последние две линии крыс были получены в 1920-х гг. в Колумбийском университете Кертисом и Даннингом (Curtiss; Dun-

ning) (Hedrich, 1990). При этом данная группа значительно отличается от группы линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar (более 94 нуклеотидов между группами), что ставит под сомнение возможное родство крыс линии Wistar (ИЦиГ) и исходной линии крыс Wistar или ее потомков (табл. 1).

Исходя из полученных данных можно заключить, что линия крыс Wistar (ИЦиГ) произошла от линии *Rattus norvegicus* strain F344 × BN F1 (GenBank: AY769440.1) или имеет общую с ним линию-родителя, с меньшей вероятностью – с крысами *Rattus norvegicus* линии SS/Jr (GenBank: GU997608.1), *Rattus norvegicus* линии SR/Jr (GenBank: GU997611.1), *Rattus norvegicus* линии PVG/OlaHsd (GenBank: FJ919762.1), *Rattus norvegicus* линия F344/DuCr12Swe (GenBank: FJ919761.1). Известно, что крысы *Rattus norvegicus* линии F344 × BN F1 являются гибридами первого поколения между F344/NHsd самками и BN/RijHsd самцами и используются преимущественно в экспериментах по изучению хронической невропатической боли.

Поскольку линия крыс OXYS (ИЦиГ) имеет дополнительно две уникальные нуклеотидные замены относительно линии крыс Wistar (ИЦиГ), не встречающиеся в других известных нуклеотидных последовательностях ДНК митохондрий крыс, это является доказательством происхождения данной линии от линии крыс Wistar (ИЦиГ). При этом обе нуклеотидные замены не приводят к аминокислотным заменам, поэтому все фенотипические различия в данных линиях могут объясняться исключительно различиями в геномной ДНК.

Анализ фрагмента нуклеотидной последовательности мтДНК крыс линии Wistar (Пушино) подтверждает ее принадлежность к группе линий крыс, полученных от аутбредной колонии крыс Wistar (рис. 2). Для более точного сравнительного анализа линии Wistar (Пушино) необходимо секвенирование полного генома митохондриальной ДНК данной линии.

Более половины всех лабораторных линий крыс получены из исходной аутбредной колонии Wistar. При этом среди них существуют сотни линий крыс с неясной историей происхождения. Известно, что наиболее близкие по нуклеотидной последовательности мтДНК к

линии Wistar (ИЦиГ) линии SS/Jr и SR/Jr получены из исходной аутбредной колонии Sprague Dawley, история которой начинается с 1925 г. Работы по созданию данного стока начаты в 1925 г. доктором Р. Дзули. Он скрестил гибридного капюшонного самца и самку линии Wistar. В питомник CRL животные попали в 1950 г. из Sprague Dawley, Inc. В 1955 г. животные из исходных колоний Charles River SD™ были редеривированы кесаревым сечением с целью получения колонии лабораторных животных, свободных от различных патогенов. В 1991 г. из животных этой группы образовано 8 колоний IGS Foundation. В 1997 г. животные были редеривированы, и из них была сформирована колония изоляторного содержания (Krinke, 2000; Sharpe, La Regina, 2000). Линии Wistar и Sprague Dawley фенотипически очень близки, и главным отличительным признаком является отношение длины хвоста к длине тела, которое всегда меньше 1 для линии Wistar и больше 1 для линии Sprague Dawley. Подтвердить или опровергнуть историю происхождения интересующих нас линий крыс сейчас становится возможным благодаря исследованию полных нуклеотидных последовательностей мтДНК.

Как отмечалось выше, крысы *Rattus norvegicus* находят широкое применение в качестве лабораторных животных и представляют собой отличную модель для исследования различных аутоиммунных заболеваний, включая ревматоидный артрит. Причем выраженность индуцируемого в эксперименте заболевания и эффективность его лечения в значительной степени зависят от используемой линии крыс и ее производных (Bolon *et al.*, 2011). Для полноценного сравнения получаемых разными авторами результатов важно установить с помощью современных геномных методов точное происхождение и родство линий крыс, используемых в эксперименте. Полученные нами данные с учетом изученных ранее свойств крыс линии OXYS (ИЦиГ) позволяют предположить перспективность использования этой линии в модели адьювант-индуцированного артрита.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00050).

ЛИТЕРАТУРА

- Колосова Н.Г., Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И. Динамика структурно-функциональных изменений митохондрий гепатоцитов преждевременно стареющих крыс линии OXYS // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 2001. Т. 132. № 8. С. 235–240.
- Колосова Н.Г., Лебедев П.А., Айдагулова С.В., Морозкова Т.С. Крысы OXYS как модель сенильной катаракты // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 2003а. Т. 136. С. 415–419.
- Колосова Н.Г., Лебедев П.А., Фурсова А.Ж., Морозкова Т.С., Гусаревич О.Г. Преждевременно стареющие крысы OXYS как модель сенильной катаракты человека // Усп. геронтологии. 2003б. Т. 12. С. 143–148.
- Соловьева Н.А., Морозкова Т.С., Салганик Р.И. Получение сублинии крыс с признаками наследственной галактоземии и исследование их биохимических особенностей // Генетика. 1975. № 5. С. 63–71.
- Шабалина И.Г., Колосова Н.Г., Гришанова А.Ю., Соловьева Н.А., Соловьев В.Н., Салганик Р.И. Активность окислительного фосфорилирования, F₀F₁-АТФазы и содержание цитохромов митохондрий печени крыс с врожденным повышением способности радикалообразования // Биохимия. 1995. Т. 66. № 12. С. 2045–2052.
- Bobko A.A., Sergeeva S.V., Bagryanskaya E.G., Markel A.L., Khramtsov V.V., Reznikov V.A., Kolosova N.G. 19F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. V. 330. No. 2. P. 367–370.
- Bolon B., Stolina M., King S., Gasser J., Zack D., Feige U. Rodent preclinical models for developing novel antiarthritic molecules: comparative biology and preferred methods for evaluating efficacy // J. Biomed. Biotech. 2011. doi: 10.1155/2011/569068.
- Brandon M.C., Lott M.T., Nguyen K.C., Spolim S., Navathe S.B., Baldi P., Wallace D.C. MITOMAP: a human mitochondrial genome database–2004 update // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. P. 611–613.
- Canzian F. Phylogenetics of the laboratory rat *Rattus norvegicus* // Genome Res. 1997. V. 7. P. 262–267.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // Evolution. 1985. V. 39. P. 783–791.
- Hedrich H.J. Genetic Monitoring of Inbred Strains of Rat. N.Y.: Fischer, 1990. P. 539.
- Kolosova N.G., Muraleva N.A., Stefanova N.A., Fursova A.Z., Zhdankina A.A., Blagosklonny M.V. Prevention of age-related macular degeneration-like retinopathy by rapamycin in rats // Am. J. Pathol. 2012a. V. 181. P. 472–477.
- Kolosova N.G., Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P. The mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 but not N-acetylcysteine reverses aging-related biomarkers in rats // Aging (Albany NY). 2012b. V. 4. No. 10. P. 686–694.
- Kolosova N.G., Stefanova N.A., Sergeeva S.V. OXYS rats: a prospective model for evaluation of antioxidant availability in prevention and therapy of accelerated aging and age-related cognitive decline: Handbook of Cognitive Aging: Causes, Processes / Eds Q. Gariépy, R. Ménard. N.Y.: Nova Sci. Publ., 2009. P. 47–82.
- Kozhevnikova O.S., Korbolina E.E., Ershov N.I., Kolosova N.G. Rat retinal transcriptome: effects of aging and AMD-like retinopathy // Cell Cycle. 2013. V. 12. P. 1745–1761.
- Krinke G.J. The handbook of experimental animals: The laboratory rat / Eds G. Bullock, T.E. Bunton. N.Y.: Academic Press, 2000. P. 1.
- Markovets A.M., Fursova A.Z., Kolosova N.G. Therapeutic action of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on retinopathy in OXYS rats linked with improvement of VEGF and PEDF gene expression // PloS One. 2011a. V. 6. e21682.
- Markovets A.M., Saprunova V.B., Zhdankina A.A. *et al.* Alterations of retinal pigment epithelium cause AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats // Aging (Albany NY). 2011b. V. 3. No. 1. P. 44–54.
- Muraleva N.A., Ofitserov E.N., Tikhonov V.P., Kolosova N.G. Efficacy of glucosamine alendronate alone and in combination with dihydroquercetin for treatment of osteoporosis in animal model // Indian J. Med. Res. 2012. V. 135. P. 221–227.
- Schlick N.E., Jensen-Seaman M.I., Orlebeke K. *et al.* Sequence analysis of the complete mitochondrial DNA in 10 commonly used inbred rat strains // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2006. V. 291. P. 1183–1192.
- Sergeeva S., Bagryanskaya E., Korbolina E., Kolosova N. Development of behavioral dysfunctions in accelerated-senescence OXYS rats is associated with early postnatal alterations in brain phosphate metabolism // Exp. Gerontol. 2006. V. 41. P. 141–150.
- Sharpe P.E., La Regina M.C. The Laboratory Rat / Ed. M.A. Suckhew. N.Y.: CRC Press, 2000. P. 1–2.
- Stefanova N.A., Kozhevnikova O.S., Vitovtov A.O., Maksimova K.Y., Logvinov S.V., Rudnitskaya E.A., Korbolina E.E., Muraleva N.A., Kolosova N.G. Senescence-accelerated OXYS rats: a model of age-related cognitive decline with relevance to abnormalities in Alzheimer disease // Cell Cycle. 2014a. V. 15. P. 898–909.
- Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P., Kolosova N.G. Alzheimer's disease-like pathology in senescence-accelerated OXYS rats can be partially retarded with mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 // J. Alzheimers Dis. 2014b. V. 38. P. 681–694.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. P. 1596–1599.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucl. Acids Res. 1994. V. 22. P. 4673–4680.
- Vays V.B., Eldarov C.M., Vangely I.M., Kolosova N.G., Baakeeva L.E., Skulachev V.P. Antioxidant SkQ1 delays sarcopenia-associated damage of mitochondrial ultrastructure // Aging (Albany NY). 2014. V. 6. P. 140–148.

**COMPARISON OF THE COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCES
OF MITOCHONDRIAL DNA FROM WISTAR AND OXYS RAT STRAINS
MAINTAINED AT THE INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS SB RAS**

**R.A. Maksyutov¹, E.V. Gavrilova¹, T.S. Nepomniashchikh¹, U.N. Rotskaya²,
P.S. Loshchenova², N.G. Kolosova², O.I. Sinitsyna², S.N. Shchelkunov^{1, 2}**

¹ State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Novosibirsk oblast, Russia;

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Summary

The study was performed with complete nucleotide sequences of the mitochondrial DNA of Wistar rats and prematurely aging OXYS rats, sensitive to the cataractogenic effect of galactose, kept at the Gene pool of laboratory animals shared access center, Institute of Cytology and Genetics (ICG) of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. The nucleotide sequences were submitted to GenBank. It was shown that two additional unique nucleotide substitutions between rats OXYS (ICG) and Wistar (ICG) were absent from other known nucleotide sequences of rat mitochondrial DNA of rats and that they did not cause amino acid substitutions, so that all phenotypic differences between the lines were determined only by differences in their nuclear DNA. The comparative analysis showed that Wistar (ICG) rats had a significant number of nucleotide substitutions compared to rat strains derived from an outbred Wistar colony. This observation contradicts the conjectured relationship of Wistar (ICG) rats to the original Wistar rat stock or its descendants. It is assumed that the Wistar (ICG) rats had descended from the Sprague Dawley rat line, at least, through female lineage.

Key words: Wistar and OXYS rats, mitochondrial DNA, degree of relationship.

УДК 575.164:575.174.4:599.323.43

ЭТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ОКРАСОЧНОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ПОПУЛЯЦИИ КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ (*MYODES RUTILUS*) ИЗ ОКРЕСТНОСТЕЙ НОВОСИБИРСКА

© 2014 г. О.Ф. Потапова, М.А. Потапов, В.В. Панов, В.И. Евсиков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия, e-mail: map@ngs.ru

Поступила в редакцию 23 июля 2014 г. Принята к публикации 25 августа 2014 г.

Популяция красной полевки (*Myodes rutilus*) из окрестностей новосибирского Академгородка полиморфна – часть особей имеет необычную черную окраску огузка. В экспериментальных условиях установлено, что взрослые самцы аберрантной формы превосходят стандартно окрашенных по адаптивно значимым показателям – массе тела и исследовательской активности, а также занимают более высокое положение в социальной иерархии и, обладая «оптимальным» соотношением между выраженностью миролюбивого и агрессивного поведения, более привлекательны для рецептивных самок. Все это в условиях высокой численности и напряженности социальных отношений дает селективное преимущество аберрантным самцам уже в начале сезона размножения, в результате чего они оставляют большее число потомков – носителей признака в популяции. Рожденные в ранних выводках аберрантные сеголетки рано созревают и вступают в размножение, но при этом элиминируют к осени. В разреженной популяции все указанные преимущества теряют свое значение и доля аберрантных особей не меняется в сезоне размножения. Тем самым этологические механизмы, определяющие конкурентоспособность самцов и брачные предпочтения самок, участвуют в поддержании динамичного полиморфизма по окраске шерстного покрова в популяции красной полевки.

Ключевые слова: красная полевка, исследовательская активность, социальный ранг, агрессивность, половая привлекательность, окрасочный полиморфизм, плейотропия генов окраски.

ВВЕДЕНИЕ

Во многих популяциях мелких грызунов отмечен полиморфизм по окраске шерстного покрова (Гершензон, 1946; Lidicker, 1963; Martell, 1977; Шварц, 1980; Кошкина и др., 1982; Большаков и др., 1989; Григорьев, 1989; Axenovich *et al.*, 2004; Iwasa, 2004). Поддержанию окрасочного полиморфизма у млекопитающих способствуют плейотропия и взаимные эффекты генетических систем, ответственных, с одной стороны, за окраску покровов, а с другой – за многие адаптивно значимые характеристики животных (Беляев, Евсиков, 1967; Большаков и др., 1989; Manne *et al.*, 1995; Евсиков и др., 1997, 2001; Потапов и др., 1998; Bazhan *et al.*, 1999; Вагин, 2001; Брагин и

др., 2002; Трапезов, 2008; Трапезов, Трапезова, 2009; Gulevich *et al.*, 2010; Каштанов и др., 2014). Множественная плейотропия генов окраски у млекопитающих во многом связана с общим эмбриональным происхождением из нервного гребня (нейрального креста) как меланоцитов, так и значительного пула клеток нервной и гормональной систем (Сосунов, 1999).

Изучаемая популяция красной полевки обитает в окрестностях полуторамиллионного г. Новосибирска, где подвергается значительной антропогенной нагрузке, что, впрочем, не препятствует ей, как и другим популяциям живущих здесь мелких млекопитающих, успешно поддерживать свое существование, приобретая при этом особые черты.

Ранее мы сообщали, что в ходе многолетнего мониторинга популяций мелких млекопитающих, проводимого с начала 1990-х гг. в окрестностях новосибирского Академгородка, появление в отловах особей красной полевки с необычной черной окраской огузка (области над крестцом) впервые было отмечено в 1996 г. (Потапов и др., 2011). Прежде подобной аберрации в данной местности не регистрировали (Юдин, 1969; Телегин, 1971–1973).

Признак «черное пятно на крестце» был отмечен ранее в краевых тундровых чукотских популяциях вида (Кривошеев и др., 1981а, б). Предположение авторов о том, что «идентичный» признак описан в тундровой популяции в Канаде (Martell, 1977), не оправданно. «Темный огузок» там был обусловлен тем, что концы многих остевых волос нижней части спины и огузка имели окраску «сепия» (темно-коричневая) на фоне общего осветления остальной части дорсальной области (Martell, 1977). В чукотской же тундровой популяции, как и в нашем случае, аберрантные особи характеризовались более интенсивной основной окраской мантии, а остевые волосы огузка были полностью черные – эумеланиновые (Кривошеев и др., 1981б; Потапов и др., 2011).

Первые красные полевки с нетипичной окраской отмечены в популяции из окрестностей Новосибирска в год, следующий за фазой низкой численности, когда возрастает вероятность инбридинга и, соответственно, выхода рецессивного признака в гомозиготное состояние. Отметим, что комплексный сегрегационный анализ, проведенный на основе лабораторного разведения зверьков, выявил моногенный аутосомный рецессивный контроль наследования признака «черный огузок» (Потапов и др., 2011).

В первые годы после появления в популяции нового признака аберрантными были единичные экземпляры. После следующего глубокого спада численности (1998 г.) на фоне быстрого роста численности в 1999 г. доля подобных зверьков значительно возросла и затем, в период высокой численности (вплоть до 2003 г.), составляла уже 11–16 % от общего числа исследованных особей. Очевидно, что столь быстрое накопление в популяции доли носителей аберрантного признака было опосредовано адаптивными преимуществами, приобретенными

ими благодаря плейотропным эффектам гена, определяющего окраску огузка.

Динамика доли аберрантной формы синхронизировалась с изменениями относительной численности: так, за период 1998–2010 гг. корреляция Спирмена между этими показателями составила $r_s = +0,69$, $n = 13$, $p < 0,01$. Это свидетельствует о том, что преимущества аберрантной формы проявляются при высокой популяционной плотности, а в годы низкой плотности они теряются.

В данной работе мы наблюдали за проявлением признака «черный огузок» у красной полевки; для выяснения механизмов генетического популяционного гомеостаза по признаку окраски шерсти проверяли предположение о наличии у аберрантных самцов селективных преимуществ в размножении и сопоставляли доли окрасочных форм в разных возрастных группах в годы высокой и низкой численности популяции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные, их отлов и условия содержания

Отлов животных в окрестностях новосибирского Академгородка производили в стандартные ловчие канавки и с помощью модифицированного метода «ловушко-линий» (Панов, 2001). Последний метод использовали для оценки относительной численности красной полевки исследуемой популяции как более адекватный поставленной задаче (Панов, 2010). Регистрировали окраску шерстного покрова, пол, возраст и репродуктивное состояние отловленных животных, относя их к следующим трем группам: зимовавшие особи, размножающиеся и неполовозрелые сеголетки.

Годы исследований, вошедшие в анализ, были разделены на две категории: годы с высокой относительной численностью (1999–2003, 2005, 2007 и 2010 гг.), составлявшей в среднем $6,02 \pm 0,62$ ($M \pm SEM$), $n = 8$, и годы с низкой численностью популяции (2004, 2006, 2008 и 2009 гг.) – $2,63 \pm 0,11$, $n = 4$ особей на 100 ловушко-суток ($t = 3,77$, $p = 0,004$). Исследовано 2725 особей в годы высокой численности и 1014 – в годы низкой. При этом рассмотрены доли аберрантной формы в разных возрастных группах животных.

В виварии животных содержали в стандартных условиях (постоянный фотопериод 14 С : 10 Т, температура воздуха 21 ± 2 °С) в сетчатых клетках ($27 \times 37 \times 19$ см) с пластиковыми поддонами с предоставлением подстилочного (древесные стружки) и гнездового (вата и сухая трава) материала, воды в автопоилках и комбинированного корма (Петрухин И.В., Петрухин Н.И., 1992), с природным прикормом в виде ягод, грибов, еловых шишек и др. (Юдин и др., 1979).

Репродуктивные пары содержали в подобных же условиях, наблюдая за особенностями окраски рожденных ими потомков и ее изменением с возрастом.

Масса тела самцов, поведенческие тесты и интерпретация результатов

Изучали поведение половозрелых (≥ 3 мес.) самцов разных окрасочных форм. Перед проведением поведенческих тестов животных взвешивали.

Трехминутный тест «открытое поле» проводили на круглой пластиковой нейтральной арене ($\varnothing 50$ см с высотой стенки 30 см), освещенной лампой накаливания (60 W). Регистрировали следующие показатели: время выхода из стартового центрального сектора, число пересеченных секторов в центральной и периферической зонах арены (двигательная активность), число ориентировочных «столбиков» (вертикальная активность), число замираний и актов чистки (груминга), дефекации и урикации. С помощью многомерного факторного анализа (Животовский, 1991) частот элементов поведения выделено три фактора, первый из которых интерпретирован нами как «исследовательская активность». Основную нагрузку на него дали показатели ориентировочной вертикальной (0,73) и двигательной активности в центральной (0,73) и периферической (0,75) зонах установки, а также груминг (0,36).

Десятиминутные диадные (парные) тесты проводили на подобной же круглой нейтральной арене с регистрацией для каждого из самцов частот 29 элементов поведения с последующим выделением двух главных факторов. Фактор 1 был интерпретирован как «миролюбивое поведение», в который внесли положительный вклад обнюхивания различных зон тела оппонента

(0,38–0,77), телесные контакты с ним (0,30–0,74), социальный груминг (0,67). Фактор 2 был интерпретирован как «агрессивное поведение», основной вклад в который внесли элементы агрессии: приближения к оппоненту и его преследования (0,33–0,52), атаки, бокс и драки (0,40–0,45), а также угрожающие стойки (0,81).

Кроме того, на основе регистрации проявления животными типичных поведенческих демонстраций (боковая угрожающая стойка, битье хвостом и т. п.) и агрессии (преследования, атаки, укусы), а также элементов подчиненного поведения (замирания, избегания контакта с партнером, вокализация) каждую особь относили к одному из следующих рангов: доминанты, субдоминанты 1-го порядка, субдоминанты 2-го порядка, подчиненные. Выделение четырех рангов у самцов красной полевки использовано ранее в работе О.В. Осиповой и М.А. Сербенюка (1992) и обосновано тем, что для самцов данного вида характерно формирование сложной системы иерархических отношений, как показано в работах Т.В. Кошкиной с соавт. (1972) и В.С. Громова (2008).

В серии 10-минутных тестов с предъявлением нескольким рецептивным (в состоянии эструса) самкам двух запаховых стимулов самцов (3-дневной подстилки) в установке ($33 \times 13 \times 10$ см) с тремя отсеками (центральный – стартовый) определяли относительную половую привлекательность самцов, т. е. долю тестов, где самец был «предпочитаемым», – по относительно большему времени исследования самками его запахового стимула (Евсиков и др., 2006).

Исследованы индивидуальное поведение в «открытом поле» и масса тела 32 самцов стандартной и 45 аберрантной окраски, а также социальное поведение в парных тестах и половая привлекательность 23 самцов стандартной и 35 особей аберрантной окрасочных форм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменчивость экспрессии признака «черный огузок»

Наблюдение за экспрессией признака «черный огузок» при разведении животных в контролируемых условиях показало, что он проявляется в виде потемнения всей поверх-

ности спины уже у двухдневных детенышей. С возрастом темноокрашенная зона уменьшается и к недельному возрасту уже выглядит как типичный «черный огузок» (рис. 1, а).

Площадь «черного огузка» у взрослых особей изменчива и достигает $1/3$ – $1/2$ (и более) поверхности спины (рис. 1, б), что больше, чем в чукотской популяции, где она составляла $1/6$ – $1/4$ дорсальной части (Кривошеев и др., 1981а, б). Характерен визуально более интенсивный тон окраски остальной части «мантии» (чепрака) у абберрантных особей. У некоторых «стандартных» зверьков, предположительно гетерозиготных, отмечена промежуточная «серая» окраска огузка (рис. 1, б).

Масса тела

и исследовательская активность самцов

На выборке одновозрастных половозрелых самцов показано, что абберрантные по окраске особи на 14 % превосходят стандартных по такому жизненно важному показателю, отражающему конкурентоспособность, как масса тела. При этом они обладают большей «исследовательской активностью» в «открытом поле» (рис. 2). Известно, что исследовательская активность самцов способствует эффективному освоению территории и осуществлению прямой и опосредованной – через ольфакторные контакты – коммуникации, важность которой для данно-

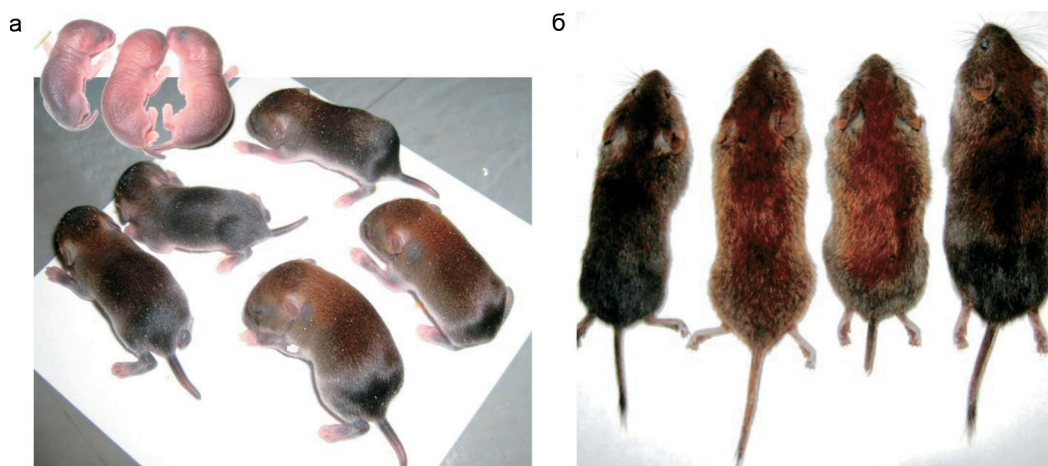


Рис. 1. Изменчивость окраски красной полевки.

а – проявление «черного огузка» у детенышей разного возраста: верхний ряд – 2 дня (в середине – стандартная особь), средний ряд – 5 дней, нижний – 8 дней; б – окраска взрослых полевок, слева направо: абберрантная («черный огузок» $> 1/2$ спины), стандартная, стандартная с «серым огузком», абберрантная («черный огузок» около $1/3$ спины).

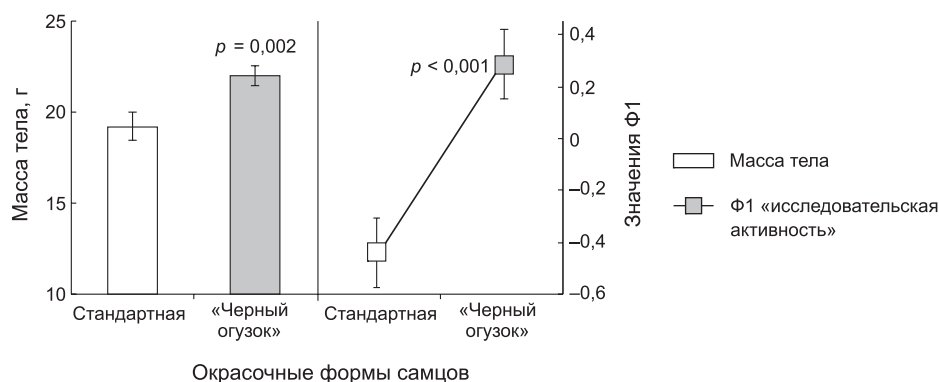


Рис. 2. Масса тела самцов разной окраски красной полевки и их исследовательская активность в тесте «открытое поле».

На этом и последующих рисунках планки погрешностей представляют ошибки средних.

го вида показана в работе Л.Б. Кравченко и Н.С. Москвитиной (2008).

Поведение самцов в диадных тестах и их привлекательность для самок

Установлено, что самцы разного ранга отличаются особенностями их социального поведения. Подчиненные и субдоминанты 2-го порядка характеризуются низкими показателями как «агрессивности», так и «миролюбия». Привлекательность таких самцов для самок также низка. Самыми привлекательными для самок оказались субдоминанты 1-го порядка со средней «агрессивностью» и самой большой выраженностью «миролюбия». Доминанты же – наиболее агрессивные особи, которые имеют низкие показатели как «миролюбия», так и привлекательности для самок (рис. 3). Таким образом, очевидно, что привлекательность самца для самок связана в большей мере с его «миролюбием», чем с его «агрессивностью».

Ранее на ряде видов грызунов нами показан такой же, как у красной полевки, нелинейный характер зависимости половой привлекательности самца от его агрессивности (Евсиков и др., 2006; Потапов и др., 2010; Потапов, Евсиков, 2011). Можно предположить, что и у других видов привлекательность самцов связана в большей мере с их миролюбием, чем с агрессивностью. Возможно, что именно миролюбивое поведение самца способствует успешности его репродуктивного взаимодействия с самками. Так, в работе Г.Г. Назаровой с соавт. (2007) на примере водяной полевки показано, что число миролюбивых знакомительных контактов со стороны самца при парном ссаживании с самкой является предиктором успешного размножения данной пары.

Важно отметить, что в распределении социальных рангов у стандартных самцов преобладают субдоминанты 2-го порядка, а у абберрантных – наиболее привлекательные для самок субдоминанты 1-го порядка (рис. 4). Отличия между окрасочными формами в распределении

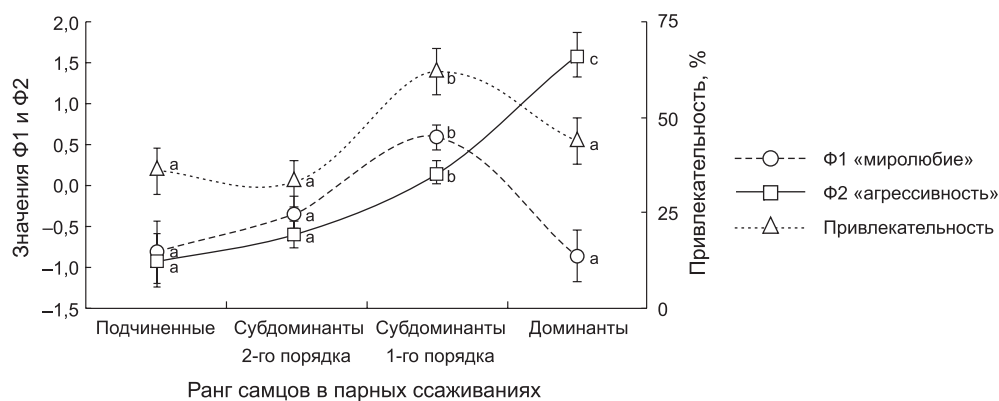


Рис. 3. Выраженность «миролюбия» и «агрессивности» и половая привлекательность самцов красной полевки разного социального ранга.

a, b, c на каждой кривой – достоверно различающиеся значения.

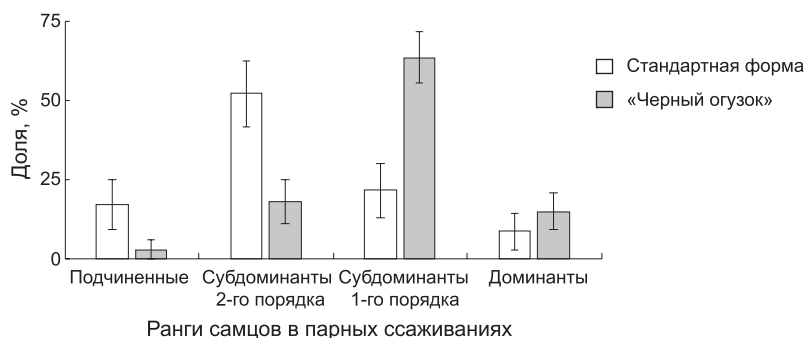


Рис. 4. Доли самцов разного социального ранга у окрасочных форм красной полевки.

рангов достоверны ($\chi^2_3 = 13,6, p = 0,004$). Таким образом, по всей видимости, именно aberrантные самцы обладают «оптимальным» сочетанием агрессивности и миролюбия и получают предпочтение рецептивных самок.

В природе при высокой численности в сезон размножения в агрегациях самцов красной полевки возникает напряженная конкуренция и формируется сложная иерархическая структура (Кошкина и др., 1972; Громов, 2008). Поэтому именно в такие годы выявленные нами преимущества aberrантных самцов могут обеспечивать им более высокий вклад в размножение и, соответственно, быстрый рост доли носителей нового признака в популяции следующего поколения. В.Г. Кривошеев с соавт. (1981а, б) также отмечали, что частота «темной морфы» возрастала именно в годы роста и пика численности и особенно к концу лета – после размножения. Можно полагать, что продолжительный период высокой численности (1999–2003 гг.) в популяции красной полевки в окрестностях Новосибирска позволил новому признаку «черный огузок» закрепиться. Однако в годы низкой численности (в разреженной популяции) иерархическая структура у самцов сглажена (Кошкина и др., 1972; Громов, 2008) и в результате aberrантные особи теряют свои указанные выше преимущества.

Доли окрасочных форм в возрастных группах при разной численности

В зоне обитания изучаемой популяции экологически оправдано существование у мышевидных грызунов двух альтернативных

«стратегий онтогенетического развития» (Оленев, 2002), суть которых можно кратко свести к следующему. Первая стратегия, характерная для ранних весенних генераций, – быстрое половое созревание и размножение в год рождения, но затем – предзимняя элиминация. Вторая стратегия, характерная для поздних летних генераций, – задержка созревания, но благополучная зимовка, а затем созревание и вступление в размножение на следующий год (Панов, 2010).

В изучаемой популяции красной полевки в годы высокой популяционной плотности доля aberrантных особей среди размножающихся сеголетков достоверно выше, чем среди зимовавших особей (рис. 5).

Поскольку зимовавшие особи представляют родительское поколение по отношению к ранним генерациям сеголетков, то, по всей видимости, этот прирост доли aberrантной формы свидетельствует о более раннем и интенсивном размножении зимовавших зверьков, несущих признак «черный огузок».

В группе неполовозрелых сеголетков, представляющих преимущественно поздние, зимующие, генерации, доля темноокрашенных зверьков снижается. Мы полагаем, что это связано с элиминацией закончивших размножение aberrантно окрашенных зимовавших и сеголетков, с одной стороны, и с поздним пополнением популяции потомками стандартно окрашенных зверьков – с другой.

В годы же низкой популяционной плотности доля «частичных меланистов» в сезоне практически не меняется (рис. 5), что свидетельствует об отсутствии различий в успешности

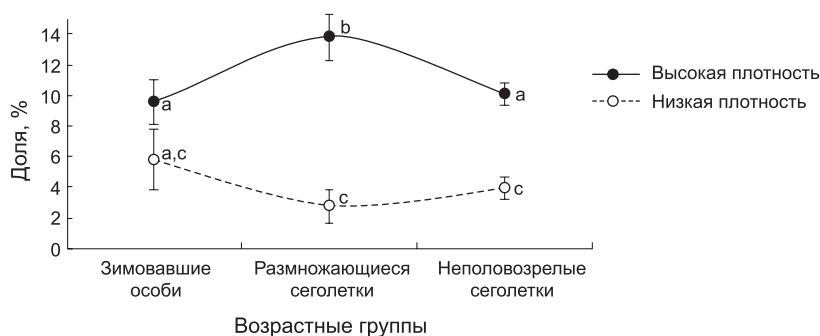


Рис. 5. Доля aberrантных особей красной полевки в разных возрастных группах в годы с разной популяционной плотностью.

a, b, c – достоверно различающиеся значения.

размножения между разными окрасочными формами.

Однако для установления степени взаимозависимости участия в размножении разных возрастных групп двух окрасочных форм с дальнейшей судьбой их потомков в естественной среде обитания требуются более детальные полевые и лабораторные исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В популяции красной полевки, обитающей в окрестностях новосибирского Академгородка, самцы аберрантной окрасочной формы «черный огузок» превосходят стандартных особей по таким адаптивно значимым показателям, как масса тела и исследовательская активность, а также занимают более высокое положение в социальной иерархии, обладая оптимальным соотношением между миролюбием и агрессивностью, и главное, пользуются «расположением» рецептивных самок. Все это дает аберрантным особям селективное преимущество, в результате чего они оставляют большее число потомков, что приводит к росту доли носителей признака в популяции в условиях высокой численности и напряженности социальных отношений. В разреженной же популяции эти преимущества теряют свое значение.

Феномен смены вектора отбора в отношении признаков окраски при разной популяционной плотности перекликается с полученными ранее данными на полиморфной цикличной популяции водяной полевки. Показано, что гены, контролирующие основной тон окраски шерсти, оказывают плейотропное влияние на социальное поведение и показатели стресс-реактивности животных. Отмечено увеличение доли низкорективных черных особей в годы высокой численности, когда усиливается интенсивность агрессивных взаимодействий в популяции (Евсиков и др., 1997, 2001). Соответственно, на пике численности темноокрашенные самцы занимают более высокие социальные ранги, чем «стандартные» бурые особи. В годы же депрессии численности эти поведенческие различия между окрасочными формами нивелируются.

Важно, что изучаемая популяция красной полевки обитает в нетипичной для таежного вида

лесостепной зоне окрестностей Новосибирска, т. е. в субоптимальных условиях (Новиков и др., 2012), что роднит ее с краевыми тундровыми чукотскими популяциями. Существование в субоптимальных условиях требует выработки «защитных» популяционных механизмов, к которым можно отнести приобретение полиморфизма, способствующего увеличению генетического разнообразия и сохраняющего устойчивость популяции к неблагоприятным и нестабильным условиям.

Следует отметить, что многолетнее пребывание изучаемой популяции в условиях существенной рекреационной нагрузки обременено также ее существованием в антропоургическом очаге клещевого энцефалита, где вид является основным прокормителем преимагинальных фаз иксодовых клещей и резервуарным хозяином вируса. Немаловажно указать на установленное нами дифференцированное участие разных окрасочных форм в циркуляции вируса клещевого энцефалита в зависимости от фазы популяционной численности (Потапова и др., 2013). В проведенных ранее на этой же популяции исследованиях «миролюбивые» самцы обладали большей иммунореактивностью по сравнению с доминантами и подчиненными (Мак и др., 2002). При этом, как показано в нашей работе, доля «миролюбивых» самцов выше среди аберрантных особей.

«Возникшая» в год депрессии аберрантная форма «черный огузок» получила преимущества в условиях последовавшего затем роста и пика численности. В это время популяционный полиморфизм по окраске шерстного покрова переживал «переходную» стадию (Солбриг О., Солбриг Д., 1982), в течение которой более адаптивный в данных условиях новый аллель стал «теснить» исходный.

Само возникновение окрасочного полиморфизма обогатило генетическую изменчивость популяции и возможность ее реагирования на факторы среды, следствием чего стал беспрецедентно долгий период сохранения высокой численности красной полевки в зоне исследований (1999–2003 гг.).

В дальнейшем полиморфизм перешел в состояние «устойчивого» (сбалансированного) и поддерживался «отбором в изменчивой среде» (Солбриг О., Солбриг Д., 1982), когда разные

формы обладают разной приспособленностью в зависимости от меняющихся вне- и внутривидовых факторов. Произошло «гомеостатическое преобразование генетической структуры популяции» (Шварц, 1980). В нашем исследовании показан значимый вклад в поддержание окрасочного полиморфизма этологических механизмов, определяющих конкурентоспособность самцов и брачные предпочтения самок в условиях разной популяционной плотности.

В итоге в изучаемой популяции красной полевки сложилась динамичная полиморфная система, служащая основой поддержания генетического популяционного гомеостаза.

Благодарим Г.Г. Назарову за ценные замечания и предложения, позволившие обогатить результаты и их обсуждение.

ЛИТЕРАТУРА

- Беляев Д.К., Евсиков В.И. Генетика плодовитости животных. Сообщение I. Влияние мутаций окраски меха на плодовитость норок (*Lutreola vison* Brisson) // Генетика. 1967. Т. 3. № 2. С. 21–33.
- Большаков В.Н., Евдокимов Н.Г., Мошкин М.П., Позмогова В.П. Окрасочный полиморфизм и его связь со стресс-реактивностью у обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus* Pallas) // Докл. АН СССР. 1989. Т. 308. № 2. С. 500–502.
- Брагин А.В., Рогов В.Г., Потапов М.А., Евсиков В.И. Самцы водяной полевки с белой пятнистостью меняют свой социальный ранг в присутствии самок // Докл. РАН. 2002. Т. 387. № 1. С. 125–127.
- Вагин Ю.В. Роль гена *aleutian* в онтогенезе *Mustela vison*. 3. Анализ плодовитости норок генотипов *ppAA* и *ppAa* // Биополимеры и клетка. 2001. Т. 17. № 3. С. 249–252.
- Гершензон С.М. Роль естественного отбора в распространении и динамике меланизма у хомяков *Cricetus cricetus* // Журн. общ. биологии. 1946. Т. 7. Вып. 2. С. 97–130.
- Григорьев Е.М. Мелкие млекопитающие Малой Курильской гряды. Темная форма красно-серой полевки с острова Зеленый // Докл. МОИП. Сер. Зоология и ботаника. М.: Изд-во Наука, 1989. С. 7–11.
- Громов В.С. Пространственно-этологическая структура популяций грызунов. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. 581 с.
- Евсиков В.И., Герлинская Л.А., Мошкин М.П. и др. Генетико-физиологические основы популяционного гомеостаза (Гл. 16) // Водяная полевка: Образ вида (Сер. Виды фауны России и сопредельных стран). М.: Наука, 2001. С. 386–411.
- Евсиков В.И., Назарова Г.Г., Потапов М.А. Генетико-экологический мониторинг циклирующей популяции водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) на юге Западной Сибири // Генетика. 1997. Т. 33. № 8. С. 1133–1143.
- Евсиков В.И., Потапов М.А., Назарова Г.Г., Потапова О.Ф. Стабилизирующая функция полового отбора в отношении агрессивности самцов у грызунов // Докл. РАН. 2006. Т. 411. № 6. С. 845–846.
- Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
- Каштанов С.Н., Лазебный О.Е., Нюхалов А.П. и др. Интенсивность пигментации мехового покрова соболей (*Martes zibellina* L.) и репродуктивная способность // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2014. Т. 18. № 2. С. 245–257.
- Кошкина Т.В., Зацепин Т.С., Шефтель Б.И. Цветовые формы красной полевки на Среднем Енисее (как пример внутривидовой дифференциации) // Докл. МОИП. Сер. Зоология и ботаника. М.: Изд-во Наука, 1982. С. 16–18.
- Кошкина Т.В., Окулова Н.М., Аристова В.А. Территориальные отношения у грызунов и их роль в регуляции плотности населения // Тр. Моск. об-ва испыт. природы. Отд. биол. 1972. Т. 48. С. 215–237.
- Кравченко Л.Б., Москвитина Н.С. Поведенческие и физиологические особенности трех видов лесных полевок (*Clethrionomys*, Rodentia, Cricetidae) в связи с пространственной структурой их популяций // Зоол. журнал. 2008. Т. 87. № 12. С. 1509–1517.
- Кривошеев В.Г., Уманцева Н.Д., Кривошеева В.П., Цветкова А.А. Полиморфизм по окраске в популяциях красной полевки *Clethrionomys rutilus* (Rodentia, Cricetidae) на Чукотке // Зоол. журнал. 1981а. Т. 60. Вып. 6. С. 907–918.
- Кривошеев В.Г., Уманцева Н.Д., Кривошеева В.П., Цветкова А.А. Эпигенетический полиморфизм популяции и динамика численности красной полевки (*Clethrionomys rutilus*) на Чукотке // Размножение и численность грызунов на Дальнем Востоке. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1981б. С. 5–26.
- Мак В.В., Панов В.В., Добротворский А.К., Мошкин М.П. Сопряженная изменчивость иммунореактивности и агрессивности у самцов красной полевки (*Clethrionomys rutilus*) и полевой мыши (*Apodemus agrarius*) // Зоол. журнал. 2002. Т. 81. № 10. С. 1260–1264.
- Назарова Г.Г., Потапов М.А., Евсиков В.И. Вероятность наступления эструса и спаривания у водяной полевки *Arvicola terrestris* L. зависят от физического состояния самок, полового опыта и поведения брачных партнеров // Зоол. журнал. 2007. Т. 86. № 12. С. 1507–1512.
- Новиков Е.А., Панов В.В., Мошкин М.П. Плотностно-зависимые механизмы регуляции численности популяций красной полевки (*Myodes rutilus*) в оптимальных и субоптимальных местообитаниях юга Западной Сибири // Журн. общ. биологии. 2012. Т. 73. № 1. С. 49–58.
- Оленев Г.В. Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике (экологический анализ) // Экология. 2002. № 5. С. 341–350.
- Осипова О.В., Сербенюк М.А. Социальные отношения красных полевок (*Clethrionomys rutilus*) в экспериментальных условиях // Поведение и коммуникация млекопитающих. М.: Наука, 1992. С. 114–137.
- Панов В.В. Годовой цикл популяций мелких млекопита-

- ющих (на примере красной полевки) // Сообщества и популяции животных: морфологический и экологический анализ. Тр. Ин-та систематики и экологии животных СО РАН. Вып. 46. Новосибирск–Москва: Тов-во науч. изд. КМК, 2010. С. 125–132.
- Панов В.В. Зимний период в жизни мелких млекопитающих юга Западной Сибири // Сиб. экол. журнал. 2001. Т. 6. С. 777–784.
- Петрухин И.В., Петрухин Н.И. Кормление домашних и декоративных животных: Справочная книга. М.: Нива России, 1992. 336 с.
- Потапов М.А., Бородин П.М., Аксенович Т.И. и др. Аберрантная окраска «черный огузок» у красной полевки (*Myodes rutilus*) из окрестностей новосибирского Академгородка // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. № 4. С. 709–719.
- Потапов М.А., Евсиков В.И. Эволюционная экология плодovitости животных: Факторы эпигамного полового отбора у грызунов // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. № 1. С. 22–34.
- Потапов М.А., Потапова О.Ф., Задубровская И.В. и др. Половая привлекательность самцов и их агрессивность у грызунов с разными системами спаривания // Сиб. экол. журнал. 2010. № 5. С. 813–818.
- Потапов М.А., Рогов В.Г., Евсиков В.И. Влияние популяционного стресса на встречаемость водяных полевок (*Arvicola terrestris* L.) с белыми отметинами // Докл. АН. 1998. Т. 358. № 5. С. 713–715.
- Потапова О.Ф., Бахвалова В.Н., Чичерина Г.С. и др. Участие аберрантной окрасочной формы красной полевки (*Myodes rutilus*) в поддержании циркуляции вируса клещевого энцефалита в антропоургическом очаге // Фундаментальные и прикладные исследования и образовательные традиции в зоологии: Матер. науч. конф. Томск: Изд. дом ТГУ, 2013. С. 94.
- Солбриг О., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. М.: Мир, 1982. 488 с.
- Сосунов А.А. Нервный гребень и его нейральные производные // Сорос. образоват. журнал. 1999. № 5. С. 14–21.
- Телегин В.И. Фауна лесопарка и влияние на ее формирование антропогенного фактора // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1971. № 5. Вып. 1. С. 58–66.
- Телегин В.И. Териофауна лесопарка Новосибирского научного центра // Вопросы лесопаркового хозяйства и озеленения Новосибирского научного центра. Новосибирск: ЦСБС, 1972. С. 24–41.
- Телегин В.И. Мелкие млекопитающие Приобских сосновых боров окрестностей Новосибирска // Тр. Биол. ин-та. Вып. 16. Фауна Сибири. Ч. 2. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1973. С. 310–319.
- Трапезов О.В. Регуляторные эффекты генов поведения и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) // Информ. вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 63–83.
- Трапезов О.В., Трапезова Л.И. Воспроизводящаяся коллекция окрасочных генотипов американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777) на экспериментальной звероферме Института цитологии и генетики СО РАН // Информ. вестн. ВОГиС. 2009. Т. 13. № 3. С. 554–570.
- Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980. 280 с.
- Юдин Б.С. Комплексы насекомоядных млекопитающих в ландшафтах Новосибирской области // Биологическое районирование Новосибирской области. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1969. С. 131–143.
- Юдин Б.С., Галкина Л.И., Потапкина А.Ф. Млекопитающие Алтае-Саянской горной страны. Новосибирск: Наука, 1979. 296 с.
- Axenovich T.I., D'Andrea P.S., Fernandes F. *et al.* Inheritance of white head spotting in natural populations of South American water rat (*Nectomys squamipes* Rodentia: Sigmodontinae) // J. Hered. 2004. V. 95. No. 1. P. 76–80.
- Bazhan N.M., Yakovleva T.V., Makarova E.N. Agouti locus may influence reproduction under food deprivation in the water vole (*Arvicola terrestris*) // J. Exp. Zool. 1999. V. 283. No. 6. P. 573–579.
- Gulevich R.G., Plyusnina I.Z., Prasolova L.A. *et al.* White spotting in Norway rats selected for tame behavior // J. Zool. 2010. V. 280. Iss. 3. P. 264–270.
- Iwasa M.A. A note on aberrant pelage colors in a wild population of the gray red-backed vole *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* in Hokkaido // Mammal Study. 2004. V. 29. P. 93–95.
- Lidicker W.Z., Jr. The genetics of a naturally occurring coat-color mutation in the California vole // Evolution. 1963. V. 17. P. 340–346.
- Manne J., Argeson A.C., Siracusa L.D. Mechanisms for the pleiotropic effects of the agouti gene // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 4721–4724.
- Martell A.M. Incidence of the dark color phase in tundra and taiga populations of Northern red-backed voles *Clethrionomys rutilus* // Canad. Field-Natur. 1977. V. 91. No. 2. P. 173–175.

**ETHOLOGICAL MECHANISMS OF THE MAINTENANCE
OF COAT COLOR POLYMORPHISM IN THE POPULATION
OF THE NORTHERN RED-BACKED VOLE (*MYODES RUTILUS*)
ROUND NOVOSIBIRSK**

O.F. Potapova, M.A. Potapov, V.V. Panov, V.I. Evsikov

Institute of Animal Systematics and Ecology, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia,
e-mail: map@ngs.ru

Summary

The population of the Northern red-backed vole (*Myodes rutilus*) from the vicinity of Novosibirsk is polymorphic for coat coloration. Some of its individuals possess an unusual black color of rump. Experimental studies have shown that mature males with the aberrant coloration outperform standard males in such adaptive characteristics as body mass and exploratory activity, rank higher in social hierarchy, have an optimal balance between amicability and aggressiveness, and are more attractive for receptive females. All these features give the aberrant males an advantage at high population density and intensity of social competition as early as the beginning of the mating season. As a result, they produce more offspring, and the proportion of the aberrant individuals increases. However, the early-born aberrant progeny also early matures and starts its reproduction, thus, it is eliminated in the autumn. In a sparser population, the aforementioned advantages are less significant, and the proportion of the aberrant form remains unchanged by the end of the reproductive season. Thus, the ethological mechanisms determining male competitive capacity and female mating preferences contribute in the maintenance of the dynamic coat-color polymorphism in the Northern red-backed vole population.

Key words: red-backed vole (*Myodes rutilus*), exploratory activity, social rank, aggressiveness, sexual attractiveness, coat-color polymorphism, pleiotropy of coloration genes.

УДК 575.174:599.742.4

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ДАТИРОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГОРНОСТАЯ (*MUSTELA ERMINEA*) ПО ДАННЫМ ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНА *ND2* МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА

© 2014 г. **Б.А. Малярчук, Г.А. Денисова, М.В. Деренко**

Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Магадан, Россия,
e-mail: malyarchuk@ibpn.ru

Поступила в редакцию 17 июля 2014 г. Принята к публикации 29 июля 2014 г.

Определены нуклеотидные последовательности гена второй субъединицы NADH-дегидрогеназы (*ND2*) митохондриальной ДНК (мтДНК) горностая (*Mustela erminea*) из популяции северо-восточной части Камчатки. Анализ полученных в настоящей работе и опубликованных ранее данных об изменчивости гена *ND2* горностая показал, что уровень дивергенции между американскими и евразийскими гаплотипами мтДНК составляет по этому гену примерно 5 %, а между евразийскими гаплотипами – всего 0,5 %. Результаты филогенетического анализа также свидетельствуют о высокодостоверном разделении американских и евразийских линий мтДНК горностая, а внутри евразийской клады мтДНК с высокой статистической поддержкой выделяется кластер камчатских гаплотипов. Результаты молекулярного датирования показали, что разделение предковой популяции горностая произошло 1,3–1,6 млн лет назад, а дивергенция евразийских линий мтДНК – примерно 300 тыс. лет назад. Эволюционный возраст гаплотипов мтДНК горностая из исследованного нами района Камчатки составил примерно 95–120 тыс. лет, что совершенно не соответствует представлениям других авторов о реколонизации Евразии горностаем лишь после периода последнего ледникового максимума (19–26,5 тыс. лет назад). Обсуждаются причины выявленного несоответствия.

Ключевые слова: горностаи, митохондриальная ДНК, ген *ND2*, филогенетический анализ, молекулярное датирование.

ВВЕДЕНИЕ

Горностаи (*Mustela erminea*) относятся к числу малоизученных в генетическом отношении видов животных, несмотря на его широкий ареал. Область распространения горностая охватывает большую часть Евразии и Северной Америки – от побережья Северного Ледовитого океана и до границ зоны субтропиков (King, 1983; Павлинов, 1999). Предполагается, что горностаи как вид сформировались в среднем плейстоцене в Европе и примерно 500 тыс. лет назад проник на американский континент (Kurten, Anderson, 1980; King, 1983).

В одном из первых исследований популяций горностая, проведенных с помощью маркеров митохондриальной ДНК (мтДНК) –

гена цитохрома *b*, были выявлены три клады мтДНК (Fleming, Cook, 2002). Две из них распространены в популяциях Северной Америки, а третья включала митохондриальные линии, обнаруженные как на Аляске, так и в Евразии. К сожалению, в данной работе были представлены только три образца из Евразии, молекулярное датирование изменчивости мтДНК не проводилось, хотя авторами было высказано предположение о влиянии повторявшихся ледниковых периодов на дифференциацию генофонда горностая в популяциях Северной Америки. В другой работе, N. Kurose с соавт. (2005), исследовали филогеографию популяций на всем ареале горностая с помощью анализа полиморфизма некодирующей D-области мтДНК, однако авторы работы пришли к выводу об очень

низком уровне генетического полиморфизма у горностая и не смогли прояснить пространственную структуру генофонда этого вида. Тем не менее, N. Kurose с соавт. (2005) предположили, что низкий уровень генетической дифференциации горностая свидетельствует о том, что вся территория Евразии была реколонизирована популяциями этого вида лишь в послеледниковое время, т. е. после периода максимального оледенения, имевшего место 19–26,5 тыс. лет назад (Clark *et al.*, 2009). О заселении горностаем Британских островов лишь в послеледниковое время свидетельствуют результаты работы N. Martinkova с соавт. (2007), полученные с помощью молекулярного датирования изменчивости участка мтДНК, включающего гены цитохрома *b*, тРНК(Thr), тРНК(Pro) и фрагмента D-области. В этой работе установлено, что эволюционный возраст популяций горностая в континентальной Европе составляет примерно 60 тыс. лет.

Кроме указанных выше работ, единичные образцы *M. erminea* были использованы в исследованиях в области молекулярной систематики куньих, а также цитогенетики (Графодатский и др., 1976; Лушникова и др., 1989; Koepli, Wayne, 1998; Domingo-Roura *et al.*, 2005; Flynn *et al.*, 2005; Hosoda *et al.*, 2005; Koepli *et al.*, 2008; Harding, Smith, 2009).

Таким образом, в связи с дефицитом данных об изменчивости мтДНК горностая и отсутствием молекулярных датировок внутривидовой дивергенции в настоящей работе исследован полиморфизм нуклеотидных последовательностей гена второй субъединицы NADH-дегидрогеназы (*ND2*) в камчатской выборке горностая, проведен филогенетический анализ этого гена и с помощью различных подходов датирован процесс филогенетической дифференциации *M. erminea*. Следует отметить, что ген *ND2* ранее использовался как для изучения глобальной филогении хищных (Flynn *et al.*, 2005), так и для филогеографических исследований куньих (Sato *et al.*, 2009, 2011).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали образцы мышечной ткани 5 экземпляров горностая (*M. erminea*) из северо-восточной части Камчатки (Олоторский

район Камчатского края). Проанализированные образцы хранятся в коллекции биологических тканей животных в лаборатории генетики ИБПС ДВО РАН. Геномную ДНК выделяли с использованием стандартных методов, включающих лизис клеток протеиназой K (Sigma, USA) в присутствии 1 % додецилсульфата натрия, очистку ДНК смесью фенола и хлороформа и осаждение ДНК этиловым спиртом.

Для анализа изменчивости мтДНК исследовали полный ген *ND2* (длиной 1044 пар нуклеотидов), амплифицированный с использованием праймеров ND2-FelF и ND2-melExtR и условий полимеразной цепной реакции, описанных ранее Sato с соавт. (2009). Секвенирование амплифицированного участка мтДНК проведено с использованием праймеров ND2-FelF и ND2-CarF (Sato *et al.*, 2009) и набора для циклического секвенирования ДНК Big Dye Terminator (Applied Biosystems, v. 3.1) на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Выравнивание и анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программ пакета MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011). Расчет дивергенции между нуклеотидными последовательностями гена *ND2* проводили, основываясь на значениях *p*-дистанции (число нуклеотидных различий на сайт), с помощью пакета MEGA 5.05.

В анализе использовали также все доступные из GenBank данные об изменчивости гена *ND2* у горностая: последовательности AB564145 (Новосибирск), AB564146 (о. Хонсю), AB564147 (Канада), по данным работы Hosoda с соавт. (2011) и AY750626 (США), по данным работы Flynn с соавт. (2005). Кроме мтДНК *M. erminea* для филогенетического анализа использовали в качестве внешних групп нуклеотидные последовательности следующих куньих: ласки (*Mustela nivalis*) AY750629 (Flynn *et al.*, 2005) и DQ533949 (Fulton, Strobeck, 2007), американской куницы (*Martes americana*) (AY598546; Delisle, Strobeck, 2005), лесной куницы (*Martes martes*) (AB564141; Hosoda *et al.*, 2011) и соболя (*Martes zibellina*) AB455741 (Sato *et al.*, 2009) и NC_011579 (Xu *et al.*, 2012). Множественные выравнивания нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы ClustalW пакета программ MEGA 5.05.

Выбор наиболее оптимальных моделей нуклеотидных замен проводили с помощью байесовского информационного критерия (BIC, Bayesian Information Criterion) пакета программ MEGA 5.05. Для филогенетического анализа применяли методы ближайшего соседа (NJ, neighbor joining) и максимального правдоподобия (ML, maximum likelihood), реализованные в пакете программ MEGA 5.05, и метод Байеса (BI, Bayesian inference), реализованный в пакете программ BEAST 1.7.5 (Drummond *et al.*, 2012).

Для байесовского анализа проводили по три независимых цикла, каждый длиной 60 млн поколений. Это обеспечило стабилизацию марковских цепей (MCMC, Markov Chain Monte Carlo), значения параметра ESS (effective sample size) для всех статистик были более 200. Для анализа данных, сгенерированных с помощью BEAST 1.7.5, использовали программу Tracer 1.4. Для визуализации филогенетических деревьев, сгенерированных с помощью программы TreeAnnotator 1.7.5, использовали программу FigTree 1.4.0. Значения байесовских апостериорных вероятностей (BPP, Bayesian Posterior Probability), равные 95 % и выше, считали высокодостоверными.

Молекулярное датирование проводили с помощью байесовского подхода, реализованного в пакете программ BEAST 1.7.5. Для выбора модели молекулярных часов с помощью программы Tracer 1.4 исследовали гистограммы стандартных отклонений (параметр uclsd.stdev), полученные при использовании наиболее оптимальной модели нуклеотидных замен TN93+G+I, нестрогих логнормальных молекулярных часов и протяженности байесовского анализа, составляющей 60 млн поколений. Модель молекулярных часов выбирали также с помощью ML теста, реализованного в пакете программ MEGA 5.05.

Для молекулярного датирования с помощью байесовского анализа использовали следующие калибровки: 1) время дивергенции между всеми представителями семейства Mustelidae, за исключением подсемейств Mellivorinae и Taxidiinae, равное $11,6 \pm 1$ млн лет, по данным Коерфли с соавт. (2008); 2) возраст находок *M. palerminea* – предка *M. erminea*, равный $1,8 \pm 0,5$ млн лет (King, 1983; Коерфли *et al.*, 2008); 3) время замещения *M. palerminea* современ-

ным видом *M. erminea*, равное $0,78 \pm 0,4$ млн лет (King, 1983). Кроме этого, расчет времени дивергенции проводили с помощью метода ML (пакет программ MEGA 5.05). Использовали модель GTR+G+I и стартовое NJ-дерево, проводили бутстреп-анализ при 1000 итераций. Для эвристического поиска лучших ML-деревьев использовали метод обмена ближайшими соседями (NNI, Nearest-Neighbor-Interchange).

Полученные в настоящей работе нуклеотидные последовательности гена *ND2* горностая депонированы в GenBank под номерами KM196558–KM196562.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

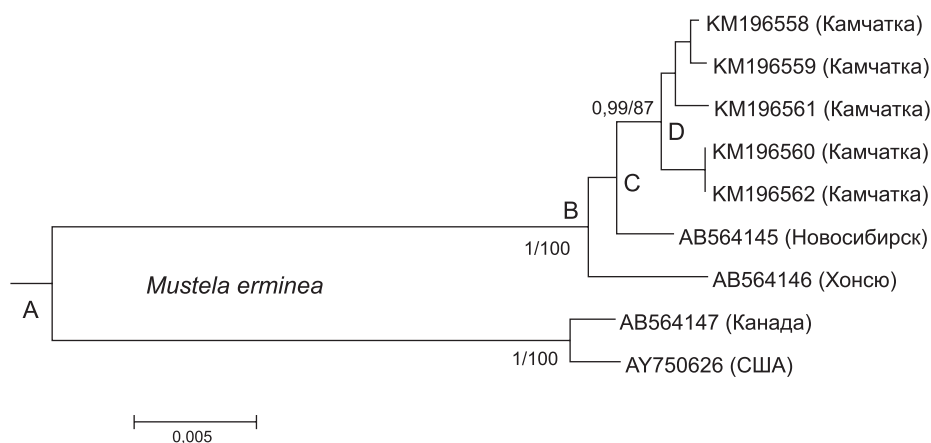
В исследованной выборке горностая из Олюторского района Камчатского края у пяти экземпляров обнаружено 5 полиморфных позиций и 4 гаплотипа гена *ND2* (рис. 1). У девяти особей горностая из различных регионов мира выявлены 63 полиморфные позиции, но 3/4 из них (48 позиций) приходится на различия между животными из Евразии и Северной Америки (рис. 1). Уровень дивергенции между гаплотипами мтДНК (*p*-дистанция) американских и евразийских горностаев составил около 5 %, а между гаплотипами горностаев из Евразии – всего 0,5 %.

Результаты филогенетического анализа также свидетельствуют о высокодостоверном в статистическом отношении разделении американских и евразийских линий мтДНК горностая (рис. 2). Между тем внутри евразийской клады мтДНК с высокой статистической поддержкой выделяется только кластер камчатских гаплотипов. Следует отметить, что несмотря на небольшое число проанализированных последовательностей мтДНК, на филогенетическом дереве представлены все основные этапы дивергенции *M. erminea*: разделение на евразийскую и американскую ветви, выделение японской линии и внутривевразийская дифференциация.

Нами проведено молекулярное датирование филогенетической дивергенции мтДНК горностая (табл.). В соответствии с результатами байесовского анализа и ML теста датирование производилось с помощью модели строгих молекулярных часов. Результаты молекулярного датирования, основанные на использовании

Номер образца в GenBank (происхождение)	Полиморфные позиции гена <i>ND2</i>
	1111112222222222223333344444444555556666677777888999999000
	127801234801112235556922248223557890999924567236668157117799033
	222787307314692552589212484062461614014792138370286926580516858
AB564145 (Новосибирск)	TATTCTCTTTTTGGTCCAGTTAGCATACAATTATCGACACCGACTCTTGCTTATTCGAACGGA
KM196560 (Камчатка)	.G.....C.....C.....G.....G.....A.....
KM196562 (Камчатка)	.G.....C.....C.....G.....G.....A.....
KM196558 (Камчатка)	C.C.....C.....G.....A.....G.....
KM196561 (Камчатка)	C.....G..C.....G.....A.....G.....
KM196559 (Камчатка)	.G.....C.C.....C.....G.....A.....G.....
AB564146 (Хонсю)	...C.....C...A.....C..G.....G.....G...G
AB564147 (Канада)	C.CCTCTCCCCCA.CTT.AC.GAT.C.AGGCC.СТ..TCTTAGTCTCC.ACCCCCAA.GAAA.
AY750626 (США)	C.CCTCTCCCCCA.CTT.AC.GATGC.AGGCCGCT...CTTAG.CTCC.ACCCCCAA.GAAA.

Нумерация полиморфных позиций соответствует таковой в нуклеотидной последовательности полного гена *ND2*.



Латинскими буквами отмечены основные филогенетические узлы, для которых в таблице приводятся результаты молекулярного датирования. Числами на ветвях показаны величины статистических поддержек, полученные с помощью байесовского (BPP > 0.95) и NJ анализа (бутстреп-индекс > 75 %).

представляется тот факт, что эволюционный возраст гаплотипов мтДНК горностая, обнаруженных всего лишь в одном районе Камчатки, оказался примерно 95–120 тыс. лет, что совершенно не соответствует представлениям об исключительно послеледниковой реколонизации Евразии горностаем, согласно N. Kurose с соавт. (2005). Следует отметить, однако, что данные, полученные N. Kurose с соавт. (2005), основывались на изменчивости главной некодирующей области мтДНК, которая характеризуется более

Таблица

Результаты молекулярного датирования филогенетической дифференциации митохондриальных линий гена *ND2* у горностая

Узлы в филогенетическом дереве *	Молекулярные датировки в млн лет (95 % доверительный интервал)		
	Байесовский анализ		ML анализ
	Калибровка 1	Калибровка 2	Калибровка 3
A	1,635 (1,095–2,215)	1,279 (0,86–1,719)	1,63 (1,175–2,085)
B	0,284 (0,138–0,449)	0,239 (0,116–0,378)	0,249 (0,132–0,366)
C	0,192 (0,087–0,313)	0,169 (0,071–0,269)	0,166 (0,086–0,246)
D	0,12 (0,045–0,207)	0,107 (0,04–0,183)	0,095 (0,04–0,151)

Примечание. Калибровка 1: две точки – $11,6 \pm 1$ и $1,8 \pm 0,5$ млн лет. Калибровка 2: две точки – $11,6 \pm 1$ и $0,78 \pm 0,4$ млн лет. Калибровка 3: одна точка – $11,6 \pm 1$ млн лет. Более подробно см. в разделе «Материалы и методы».
* См. рис. 2.

высоким уровнем гомоплазии из-за большей скорости накопления нуклеотидных замен в сравнении с кодирующей областью (Finnila *et al.*, 2001). Заметим, что гомоплазия, которая включает в себя повторяющиеся в процессе эволюции мутации в одних и тех же сайтах, но в различных филогенетически неродственных линиях ДНК, является одним из артефактов филогенетического анализа, приводящим к увеличению сходства между неродственными линиями ДНК (Malyarchuk *et al.*, 2002; Рогозин и др., 2008). Поэтому гомоплазия мутаций в главной некодирующей области мтДНК вполне могла повлиять на результаты филогенетического анализа и привести к случайной кластеризации гаплотипов горностая независимо от их географического происхождения. Kurose с соавт. (2005) отмечали, что в их филогенетических реконструкциях не наблюдалось кластеров мтДНК, характеризующихся высокой статистической поддержкой.

Необходимо также отметить, что виды характеризуются, как правило, наличием филогенетической структуры, которая проявляется на генных деревьях в виде отчетливых кластеров ДНК (Avice, 1989; Абрамсон, 2007). На выраженность филогеографической структуры влияют скорость миграции и размер популяций (Irwin, 2002). Отсутствие филогеографической структуры может быть связано с быстрым расселением вида по ареалу при отсутствии географических преград: чем выше скорость миграции и межпопуляционного обмена осо-

бами, тем меньшей ожидается степень филогеографической дифференциации (Абрамсон, 2007; Малярчук, 2011). Между тем низкий уровень дифференциации между популяциями и отсутствие взаимосвязей между гаплотипами мтДНК и географическим происхождением наблюдаются и у видов животных, подвергшихся резкому сокращению численности в результате промысла и проведению последующих массовых реакклиматизационных мероприятий, например, у соболя (Рожнов и др., 2010, 2013; Li *et al.*, 2013).

Таким образом, результаты проведенного нами исследования показывают, что предполагаемое негативное влияние последнего ледникового максимума на генетическое разнообразие в евразийских популяциях горностая (Kurose *et al.*, 2005), скорее всего, сильно преувеличено, поскольку анализ другого участка мтДНК (т. е. гена *ND2*) показывает, что даже в относительно небольшой камчатской популяции горностая сохраняется довольно высокий уровень изменчивости, для накопления которой необходим достаточно длительный период времени – около 100 тыс. лет. Для проверки наших выводов, тем не менее, необходимы дальнейшие исследования и увеличение как числа генетических маркеров, так и выборки горностая.

ЛИТЕРАТУРА

Абрамсон Н.И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // Информ. вестн. ВОГиС. 2007. Т. 11. № 2. С. 307–331.

- Графодатский А.С., Волобуев В.Т., Терновский Д.В., Раджабли С.И. G-окраска хромосом семи видов куньих (Carnivora, Mustelidae) // Зоол. журнал. 1976. Т. 55. № 11. С. 1704–1709.
- Лушникова Т.П., Омельянчук Л.В., Графодатский А.С. Филогенетические отношения близкородственных видов семейства кунцеобразных. Межвидовая изменчивость локализации рестрикционных сайтов BamHI повторов // Генетика. 1989. Т. 25. № 6. С. 1089–1094.
- Маларчук Б.А. Адаптивная внутривидовая дивергенция (на примере гена цитохрома *b* животных) // Генетика. 2011. Т. 47. № 8. С. 1103–1111.
- Павлинов И.Я. Природа России: жизнь животных. Млекопитающие (часть 1). М.: АСТ, 1999. 608 с.
- Рогозин И.Б., Глазко В.И., Кунин Е.В. Молекулярная основа закона рядов гомологической изменчивости Н.И. Вавилова // Информ. вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12. № 3. С. 362–371.
- Рожнов В.В., Мещерский И.Г., Пищулина С.Л. и др. Генетический анализ популяций соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) в районах совместного обитания на Северном Урале // Генетика. 2010. Т. 46. № 4. С. 553–557.
- Рожнов В.В., Пищулина С.Л., Мещерский И.Г. и др. Генетическая структура соболя (*Martes zibellina* L.) Евразии – анализ распределения митохондриальных линий // Генетика. 2013. Т. 49. № 2. С. 251–258.
- Avice J.C. Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to the population biology // Evolution. 1989. V. 43. P. 1192–1208.
- Clark P.U., Dyke A.S., Shakun J.D. *et al.* The last glacial maximum // Science. 2009. V. 325. P. 710–714.
- Delisle I., Stroheck C. A phylogeny of the Caniformia (order Carnivora) based on 12 complete protein-coding mitochondrial genes // Mol. Phylogenet. Evol. 2005. V. 37. P. 192–201.
- Domingo-Roura X., Lopez-Giraldez F., Saeki M., Marmi J. Phylogenetic inference and comparative evolution of a complex microsatellite and its flanking regions in carnivores // Genet. Res. 2005. V. 85. P. 223–233.
- Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D. *et al.* Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 // Mol. Biol. Evol. 2012. V. 29. P. 1969–1973.
- Finnila S., Lehtonen M.S., Majamaa K. Phylogenetic network for European mtDNA // Am. J. Hum. Genet. 2001. V. 68. P. 1475–1484.
- Fleming M.A., Cook J.A. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska // Mol. Ecol. 2002. V. 11. P. 795–807.
- Flynn J.J., Finarelli J.A., Zehr S. *et al.* Molecular phylogeny of the Carnivora (Mammalia): Assessing the impact of increased sampling on resolving enigmatic relationships // Syst. Biol. 2005. V. 54. P. 317–337.
- Fulton T.L., Strobeck C. Novel phylogeny of the raccoon family (Procyonidae: Carnivora) based on nuclear and mitochondrial DNA evidence // Mol. Phylogenet. Evol. 2007. V. 43. P. 1171–1177.
- Harding L.E., Smith F.A. Mustela or Vison? Evidence for the taxonomic status of the American mink and a distinct biogeographic radiation of American weasels // Mol. Phylogenet. Evol. 2009. V. 52. P. 632–642.
- Hosoda T., Sato J.J., Lin L.-K. *et al.* Phylogenetic history of mustelid fauna in Taiwan inferred from mitochondrial genetic loci // Can. J. Zool. 2011. V. 89. P. 559–569.
- Hosoda T., Sato J.J., Shimada K.L. *et al.* Independent non-frameshift deletions in the MC1R gene are not associated with melanistic coat coloration in three Mustelid lineages // J. Hered. 2005. V. 96. P. 607–613.
- Irwin D.E. Phylogeographic breaks without geographic barriers to gene flow // Evolution. 2002. V. 56. P. 2383–2394.
- King C.M. *Mustela erminea* // Mammal Sp. 1983. V. 195. P. 1–8.
- Koepfli K.-P., Deere K.A., Slater G.J. *et al.* Multigene phylogeny of the Mustelidae: Resolving relationships, tempo and biogeographic history of a mammalian adaptive radiation // BMC Biol. 2008. V. 6. P. 10.
- Koepfli K.-P., Wayne R.K. Phylogenetic relationships of otters (Carnivora: Mustelidae) based on mitochondrial cytochrome *b* sequences // J. Zool. 1998. V. 246. P. 401–416.
- Kurose N., Abramov A.V., Masuda R. Comparative phylogeography between the ermine *Mustela ermine* and the least weasel *M. nivalis* of Palaearctic and Nearctic regions, based on analysis of mitochondrial DNA control region sequences // Zool. Sci. 2005. V. 22. P. 1069–1078.
- Kurten B., Anderson E. Pleistocene Mammals of North America. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1980. 442 p.
- Li B., Malyarchuk B., Ma Z. *et al.* Phylogeography of sable (*Martes zibellina* L. 1758) in the southeast portion of its range based on mitochondrial DNA variation: highlighting the evolutionary history of the sable // Acta Theriol. 2013. V. 58. P. 139–148.
- Malyarchuk B.A., Rogozin I.B., Berikov V.B., Derenko M.V. Analysis of phylogenetically reconstructed mutational spectra in human mitochondrial DNA control region // Hum. Genet. 2002. V. 111. P. 46–53.
- Martinkova N., McDonald R.A., Searle J.B. Stoats (*Mustela erminea*) provide evidence of natural overland colonization of Ireland // Proc. R. Soc. B. 2007. V. 274. P. 1387–1393.
- Sato J.J., Hosoda T., Kryukov A.P. *et al.* Genetic diversity of the sable (*Martes zibellina*, Mustelidae) in Russian Far East and Hokkaido inferred from mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 2 gene sequences // Mamm. Stud. 2011. V. 36. P. 209–222.
- Sato J.J., Yasuda S.P., Hosoda T. Genetic diversity of the Japanese marten (*Martes melampus*) and its implications for the conservation unit // Zool. Sci. 2009. V. 26. P. 457–466.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. P. 2731–2739.
- Xu C.Z., Zhang H.H., Ma J.Z. *et al.* The complete mitochondrial genome of sable, *Martes zibellina* // Mitochondrial DNA. 2012. V. 23. P. 167–169.

MOLECULAR DATING OF INTRASPECIFIC DIFFERENTIATION OF THE STOAT (*MUSTELA ERMINEA*) BASED ON THE VARIABILITY OF THE MITOCHONDRIAL *ND2* GENE

B.A. Malyarchuk, G.A. Denisova, M.V. Derenko

Institute of Biological Problems of the North, Far-East Branch of Russian Academy of Sciences,
Magadan, Russia, e-mail: malyarchuk@ibpn.ru

Summary

Nucleotide sequences of the NADH dehydrogenase subunit 2 gene (*ND2*) of mitochondrial DNA (mtDNA) were determined in stoats (*Mustela erminea*) from northeastern Kamchatka. Analysis of the data on *ND2* variability in stoats presented here and in earlier studies shows that the divergence level between American and Eurasian mtDNA haplotypes is about 5 %, whereas that among Eurasian ones is as low as 0,5 %. The results of phylogenetic analysis also point to a highly significant differentiation between the American and Eurasian mtDNA lineages, whereas a single Kamchatkan cluster of mtDNA haplotypes is recognized in the Eurasian mtDNA clade with high confidence. Molecular dating shows that the separation of ancestral population of the stoat occurred approximately 1,3–1,6 million years before present (BP), but the Eurasian mtDNA lineages diverged about 300 thousand years (ka) BP. The evolutionary age of Kamchatkan mtDNA haplotypes is about 95–120 ka, which contradicts the suggestions of other authors about post-last glacial (19–26,5 ka BP) recolonization of Eurasia by stoat populations. This inconsistency is discussed.

Key words: stoat, mitochondrial DNA, *ND2* gene, phylogenetic analysis, molecular dating.

УДК 575.174.015.3: 636.082.13

СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ ДНК ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РОССИИ ДЛЯ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

© 2014 г. Н.С. Юдин^{1,2,3}, Л.А. Васильева¹, В.А. Белявская⁴,
Р.Б. Айтназаров¹, П.Н. Смирнов⁵, М. Хитон⁶, У. Легрейд⁷,
Г.В. Орлова¹, А.Г. Ромащенко¹, М.И. Воевода^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт
терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук,
Новосибирск, Россия;

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия;

⁴ Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр
вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Новосибирск, Россия;

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Новосибирский государственный аграрный университет»,
Новосибирск, Россия;

⁶ Meat Animal Research Center, United States Department of Agriculture, Clay Center, USA;

⁷ Wyoming State Veterinary Laboratory, Department of Veterinary Sciences,
University of Wyoming, Laramie, USA

Поступила в редакцию 1 июля 2014 г. Принята к публикации 11 августа 2014 г.

Создана панель из 96 образцов ДНК, характеризующая генетическое разнообразие пород крупного рогатого скота России. Панель включает по 4–8 животных от 11 молочных и 6 молочно-мясных и мясных пород. Основным критерием при включении животных в панель было наличие у них, по данным родословных, наибольшего числа неродственных гаплоидных геномов. В результате по количеству неродственных гаплоидных геномов (186,1) и минимальной популяционной частоте аллеля, необходимой для его выявления в панели с вероятностью $p > 0,95$ (0,016), собранная панель не уступает созданной в США панели MARC Beef Cattle Diversity Panel version 2.1. Анализ трех SNP у коров галловейской, герефордской, серой украинской и черно-пестрой пород показал отсутствие достоверных различий между частотами аллелей у животных в панели и в популяциях. Таким образом, собранная панель ДНК может быть использована для выбора SNPs при генетическом анализе хозяйственно важных признаков, для выявления чистопородных и гибридных животных, а также, вероятно, для предварительной оценки частот аллелей в популяциях.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, порода, *Bos taurus*, панель ДНК, генетическое разнообразие, природоохранная генетика, SNPs, ген *TNFA*, ген *SDF1*.

ВВЕДЕНИЕ

Секвенирование ряда полных геномов крупного рогатого скота выявило наличие у них значительного числа ДНК-маркеров, в

том числе однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) (Bovine HapMap Consortium, 2009). В базе данных dbSNP Национального центра биотехнологической информации США в настоящий момент их число составляет 73439641

(dbSNP, 2014). В 2007 г. компания «Illumina» начала продажу чипа BovineSNP50 Genotyping BeadChip для генотипирования 54 609 равномерно распределенных по геному SNPs, что возвестило начало новой эры геномной селекции в племенном животноводстве (Matukumalli *et al.*, 2009). Однако полногеномные ассоциативные исследования на людях показали, что количественные признаки в значительной степени контролируются множеством редких аллелей с очень малыми индивидуальными эффектами (Gibson, 2012). Это предполагает необходимость расширения поиска новых SNPs в геноме крупного рогатого скота для повышения эффективности геномной селекции и выявления мутаций, непосредственно влияющих на количественные признаки (Hayes *et al.*, 2009).

Для этой цели в США была создана панель ДНК, характеризующая генетическое разнообразие мясных пород скота (MARC Beef Cattle Diversity Panel version 2.1, MBCDP2.1) (Heaton *et al.*, 2001). В панель были включены чистопородные животные с минимальным родством между предками, что позволило усилить статистическую мощность анализа полиморфизма ДНК. Она состоит из образцов ДНК от 92 быков 16 распространенных мясных пород и 4 быков молочной голштинской породы. Панель MBCDP2.1 была использована для выявления новых SNPs в гене *PRNP* (Heaton *et al.*, 2003), анализа структуры гаплотипов в гене *IL8* (Heaton *et al.*, 2001), при разработке набора SNPs для анализа отцовства (Heaton *et al.*, 2002) и идентификации отдельных животных при забое (Heaton *et al.*, 2005).

Интенсивное внедрение технологий искусственного осеменения животных привело к заметному сокращению генетического разнообразия в генофондах популяций крупного рогатого скота России и ухудшению перспектив создания новых пород (Алтухов и др., 2004). Введение в практику животноводства высокопроизводительных методов анализа структуры ДНК позволило бы на молекулярном уровне оценить генетическое своеобразие уникальных отечественных пород крупного рогатого скота и использовать эту информацию для повышения эффективности геномной селекции (Hayes *et al.*, 2009).

В работе представлены результаты создания панели образцов ДНК, характеризующей генетическое разнообразие большого числа пород

крупного рогатого скота России. Для создания панели использовали методологию, разработанную при создании панели MBCDP2.1 (Heaton *et al.*, 2001).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы крови (коровы) и спермы (быки) были получены из племенных хозяйств Новосибирской и Московской областей, Алтайского края и Республики Алтай (табл. 1). Животных с минимальным количеством родственных связей идентифицировали преимущественно с использованием родословных на глубину 2–4 поколения. Число неродственных гаплоидных геномов вычисляли по общим предкам в родословной. Если два животных имели общего отца (мать), то предполагалось, что они имеют 3 (из 4 возможных) неродственных гаплоидных генома. Если два животных имели общего деда (бабку), то предполагалось, что они имеют 7 (из 8 возможных) неродственных гаплоидных геномов и т. д. в ряду поколений. Если родословная отсутствовала (галловейская и серая украинская породы), то предполагалось, что все гаплоидные геномы являются неродственными. При расчетах число неродственных гаплоидных геномов суммировали по всем породам, поскольку считали, что существует пренебрежимо малое число родственных гаплоидных геномов между чистопородными животными, принадлежащими к разным породам. Минимальную популяционную частоту аллеля, необходимую для его выявления в панели с вероятностью $p > 0,95$, вычисляли по методу М. Heaton с соавт. (2001). Вероятность наблюдать аллель хотя бы один раз в группе животных составляет $1 - (1 - p)^n$, где p – частота аллеля, n – число неродственных гаплоидных геномов. Преобразование уравнения $0,95 = 1 - (1 - p)^n$ дает $p = 1 - (0,05)^{1/n}$.

ДНК выделяли стандартным методом обработки протеиназой и экстракцией фенолом. Фрагмент промотора гена *TNFalpha* амплифицировали с использованием праймеров 5'-CCGAGAAATGGGACAACCT-3' и 5'-GCCATGTATCCCCAAAGAAT-3'. Ампликон обрабатывали рестриктазой EcoICR I и анализировали электрофорезом на наличие однонуклеотидного полиморфизма –824A/G (Konnai *et al.*, 2006). Два SNP, 99C/G и 128T/C, во втором

Таблица 1

Состав панели ДНК пород крупного рогатого скота России

Порода	Численность, тыс. голов	Число животных в панели	Число неродственных гаплоидных геномов	Минимальная частота аллеля, необходимая для его выявления в панели с вероятностью $p > 0,95$	Хозяйство	Пол
Чернопестрая	938,40 ^а	8	15,5*	0,18	ОПХ	♀
Голштинская	61,60 ^а	8	15,3	0,18	ФГУП	♂
Айширская	51,70 ^а	6	11,4	0,23	ГППЗ	♀
Костромская	8,90 ^а	6	11,6	0,23	ФГУП	♂
Холмогорская	156,50 ^а	6	11,1	0,24	ФГУП	♂
Джерсейская	0,81 ^в	5	9,9	0,26	ФГУП	♂
Швицкая	30,40 ^а	5	9,9	0,26	ФГУП	♂
Красная степная	80,40 ^а	5	9,9*	0,26	СПК	♀
Англерская	0,19 ^в	5	9,4	0,27	ОАО	♂
Красная горбатовская	2,95 ^в	4	7,9	0,32	ФГУП	♂
Красная датская	0,04 ^в	4	7,9	0,32	ОАО	♂
Симментальская	163,30 ^а	8	15,5*	0,18	АО	♀
Казахская белоголовая	22,28 ^б	6	11,4	0,23	ПИ	♀
Лимузинская	1,62 ^б	6	11,4	0,23	ОАО	♂
Галловейская	1,36 ^б	5	10**	0,26	ЭХ	♀
Серая украинская	0,09 ^в	5	10**	0,26	ЭХ	♀
Герефордская	39,79 ^б	4	8*	0,31	ЗАО	♀
Всего	1560,33	96	186,1	0,016		

Примечание. Численность пород в Российской Федерации приведена по состоянию на ^а 2009 г. (Сивкин и др., 2011); ^б 2006 г. (Агросервер, 2014) и ^в 2001 г. (Алтухов и др., 2004). Обозначения: ОПХ – ОПХ «Кремлевское», Новосибирская область; ФГУП – ФГУП «Центральная станция осеменения сельскохозяйственных», п. Быково, Московская область; АО – АО «Дзержинский», Новосибирская область; ГППЗ – ГППЗ «Овцевод», Алтайский край; СПК – СПК «ПЗ колхоз им. Кирова», Алтайский край; ОАО – ОАО «Барнаульское племпредприятие», г. Барнаул, Алтайский край; ПИ – СПК «Память Ильича», Алтайский край; ЭХ – Экспериментальное хозяйство СО РАН, Республика Алтай; ЗАО – ЗАО «Племенное хозяйство «Герефорд», Новосибирская область. * Животные, родословные которых включают только одно поколение; ** животные без родословных.

интроне гена *SDF1* анализировали методом секвенирования по Сэнгеру (Юдин и др., 2011).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Собранная панель ДНК в количестве 96 образцов была адаптирована для работы со стандартными 96-луночными планшетами. Образцы ДНК выделяли фенольным методом, что обеспечивает их многолетнюю сохранность. Панель содержит ДНК от 62 животных 11 молочных пород и от 34 животных 6 мясных и молочно-мясных пород (табл. 1). Материал собирали в течение 2000–2006 гг. В панель вошли 17 из 46 пород крупного рогатого скота, зарегистриро-

ванных в 1990 г. на территории России, которые на тот момент составляли более 90 % поголовья (Алтухов и др., 2004). К 2001 г. только 11 пород в панели имели эффективную численность, достаточную для нормального воспроизводства, остальные находились либо в критическом состоянии, либо исчезли. В настоящее время ситуация еще более усугубилась. К тому же многочисленные программы, направленные на «улучшение» продуктивности российских пород, привели к тому, что от 10 до 95 % общей численности поголовья составляют помесные животные (Алтухов и др., 2004). Собранная панель может быть использована для выявления чистопородных и гибридных животных, а также

для усовершенствования генофонда породы на основе породоспецифических ДНК-маркеров (Столповский и др., 2009).

Поскольку многие чистопородные животные являются родственниками, размер выборки крупного рогатого скота часто не отражает реального генетического разнообразия породы из-за включения большого числа родственных гаплоидных геномов. Поэтому при создании панели основные усилия были направлены на включение как можно большего числа неродственных гаплоидных геномов. В результате по количеству неродственных гаплоидных геномов (186,1) и минимальной популяционной частоте аллеля, необходимой для его выявления в панели с вероятностью $p > 0,95$ (0,016), созданная нами панель не уступает панели MBCDP2.1 (количество неродственных геномов – 187,1, минимальная частота выявляемого аллеля – 0,016) (Heaton *et al.*, 2001).

Число животных каждой породы в панели (от 4 до 8) зависело от вклада породы в общую численность скота в России, а также от ее природоохранного статуса в России. Хотя панель ДНК предназначена главным образом для изучения спектра аллельного разнообразия в популяциях, можно предположить, что эта панель также может обеспечить предварительную оценку частот аллелей и генотипов для стад чистопородного скота в отдельных хозяйствах, как это было показано для панели MBCDP2.1 (Heaton *et al.*, 2001). Эта гипотеза была проверена при анализе частот аллелей трех SNP в генах *TNFalpha* и *SDF1* в популяциях животных четырех пород и сравнении этих частот у животных в панели ДНК (табл. 2–4).

Анализ показал отсутствие статистически значимых различий между частотами аллелей в панели и в расширенных популяционных

Таблица 2

Частота генотипов и аллелей SNP -824A/G в промоторе гена *TNFalpha* в панели ДНК и популяционных выборках крупного рогатого скота

Порода	Число животных	Хозяйство	Частота					Сравнение частот аллелей в панели и в популяции
			Генотип			Аллель		
			A/A	A/G	G/G	A	G	
Герефордская (панель)	4	ЗАО	0,25	0,50	0,25	0,50	0,50	$\chi^2 = 0,12$
Герефордская (популяция)	98	ЗАО	0,16	0,56	0,28	0,44	0,56	$p = 0,73$
Серая украинская (панель)	5	ЭХ	0,40	0,20	0,40	0,50	0,50	$\chi^2 = 0,02$
Серая украинская (популяция)	43	ЭХ	0,30	0,44	0,26	0,52	0,48	$p = 0,89$
Черно-пестрая (панель)	8	ОПХ	0,37	0,38	0,25	0,56	0,44	$\chi^2 = 1,22$
Черно-пестрая (популяция)	107	ГУСП	0,21	0,43	0,36	0,42	0,58	$p = 0,27$

Примечание. Обозначения хозяйств: ГУСП – ГУСП ОПХ «Элитное» СибНИИРС СО РАСХН, Новосибирская область; остальные обозначения см. в табл. 1.

Таблица 3

Частота генотипов и аллелей SNP 99C/G во втором интроне гена *SDF1* в панели ДНК и популяционных выборках крупного рогатого скота

Порода	Число животных	Хозяйство	Частота					Сравнение частот аллелей в панели и в популяции
			Генотип			Аллель		
			C/C	C/G	G/G	C	G	
Галловейская (панель)	5	ЭХ	0,00	0,40	0,60	0,20	0,80	$\chi^2 = 1,74$
Галловейская (популяция)	31	ЭХ	0,32	0,19	0,49	0,42	0,58	$p = 0,19$
Черно-пестрая (панель)	8	ОПХ	0,25	0,50	0,25	0,50	0,50	$\chi^2 = 0,02$
Черно-пестрая (популяция)	81	ОПХ	0,36	0,33	0,31	0,52	0,48	$p = 0,89$

Примечание. Обозначения хозяйств см. в табл. 1.

Таблица 4

Частота генотипов и аллелей SNP 128T/C во втором интроне гена *SDF1* в панели ДНК и популяционных выборках крупного рогатого скота

Порода	Число животных	Хозяйство	Частота					Сравнение частот аллелей в панели и в популяции
			Генотип			Аллель		
			Т/Т	Т/С	С/С	Т	С	
Галловейская (панель)	5	ЭХ	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	$\chi^2 = 0,16$
Галловейская (популяция)	31	ЭХ	0,97	0,03	0,00	0,98	0,02	$p = 0,69$
Черно-пестрая (панель)	8	ОПХ	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	$\chi^2 = 0,00$
Черно-пестрая (популяция)	81	ОПХ	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	$p = 1,00$

Примечание. Обозначения хозяйств см. в табл. 1.

выборках для всех исследованных SNP. Этот результат может свидетельствовать о вероятной репрезентативности собранной панели ДНК. По нашему мнению, панель может быть полезной при предварительной селекции SNP маркеров для генетического анализа хозяйственно важных признаков у разводимых в России пород крупного рогатого скота и для проведения геномной селекции. Образцы ДНК панели могут быть использованы при разработке простых генетических тестов для массового генотипирования SNPs.

Таким образом, нами впервые в России была создана панель ДНК, которая отражает генетическое разнообразие отечественных пород крупного рогатого скота и может быть использована для крупномасштабных проектов по изучению генетического полиморфизма. Панель доступна по запросу для всех заинтересованных организаций.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, гранта МНТЦ № 1883 и РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а).

ЛИТЕРАТУРА

- Агросервер. Мясные породы КРС. 2014. <http://www.agroserver.ru/articles/178.htm>.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Курбатова О.Л. и др. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. М.: Наука, 2004. 620 с.
- Сивкин Н.В., Стрекозов Н.И., Чинаров В.И. Молочные породы крупного рогатого скота: племенные ресурсы // Молочн. пром-сть. 2011. № 6. С. 62–64.
- Столповский Ю.А., Ахани Азари М., Кол Н.В. и др. Дифференциация генофонда пород крупного рогатого скота по ISSR-PCR-маркерам // Изв. ТСХА. 2009. № 3. С. 89–97.
- Юдин Н.С., Нефедова М.В., Кобзев В.Ф. и др. Полиморфизм второго интрона гена *SDF1* у галловейской, герфордской и черно-пестрой пород крупного рогатого скота // Генетика. 2011. Т. 47. № 2. С. 279–283.
- Bovine HapMap Consortium, Gibbs R.A., Taylor J.F. *et al.* Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds // Science. 2009. V. 324. No. 5926. P. 528–532.
- Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. 2014. available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
- Gibson G. Rare and common variants: twenty arguments // Nat. Rev. Genet. 2012. V. 13. No. 2. P. 135–145.
- Hayes B.J., Bowman P.J., Chamberlain A.J., Goddard M.E. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges // J. Dairy Sci. 2009. V. 92. No. 2. P. 433–443.
- Heaton M.P., Chitko-McKown C.G., Grosse W.M. *et al.* Interleukin-8 haplotype structure from nucleotide sequence variation in commercial populations of U.S. beef cattle // Mamm. Genome. 2001. V. 12. No. 3. P. 219–226.
- Heaton M.P., Harhay G.P., Bennett G.L. *et al.* Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle // Mamm. Genome. 2002. V. 13. No. 5. P. 272–281.
- Heaton M.P., Leymaster K.A., Freking B.A. *et al.* Prion gene sequence variation within diverse groups of U.S. sheep, beef cattle, and deer // Mamm. Genome. 2003. V. 14. No. 11. P. 765–777.
- Heaton M.P., Keen J.E., Clawson M.L. *et al.* Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing // J. Am. Vet. Med. Assoc. 2005. V. 226. No. 8. P. 1311–1314.
- Konnai S., Usui T., Ikeda M. *et al.* Tumor necrosis factor- α genetic polymorphism may contribute to progression of bovine leukemia virus-infection // Microbes Infect. 2006. V. 8. No. 8. P. 2163–2171.
- Matukumalli L.K., Lawley C.T., Schnabel R.D. *et al.* Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle // PLoS One. 2009. V. 4. No. 4. P. e5350.

DNA PANEL DESIGN FOR GENOMIC STUDIES IN RUSSIAN CATTLE BREEDS

N.S. Yudin^{1,2,3}, L.A. Vasil'eva¹, V.A. Belyavskaya⁴, R.B. Aitnazarov¹, P.N. Smirnov⁵,
M. Heaton⁶, W.W. Laegreid⁷, G.V. Orlova¹, A.G. Romashchenko¹, M.I. Voevoda^{1,2,3}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;

² Institute of Internal Medicine, Novosibirsk, Russia;

³ Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

⁴ State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Novosibirsk, Russia;

⁵ Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russia;

⁶ Meat Animal Research Center, United States Department of Agriculture, Clay Center, USA;

⁷ Wyoming State Veterinary Laboratory, Department of Veterinary Sciences,
University of Wyoming, Laramie, USA

Summary

A panel of 96 DNA samples that reflects the breadth of genetic diversity in popular Russian cattle breeds has been designed. The panel of cattle DNA contains 11 dairy breeds and 6 beef and beef-dairy breeds. The numbers of animals in each breed group vary from 4 to 8. The main criterion for selection of individual animals within each breed is to maximize the total number of unshared haploid genomes according to pedigree data. The resulting panel is equivalent to USDA MARC Beef Cattle Diversity Panel version 2.1 in the power of SNP identification (number of unshared haploid genomes = 186,1, minimum allele frequency required for its detection with 95 % probability – 1,6 %). Analysis of three SNPs shows an insignificant difference between the allele frequencies in Galloway, Hereford, Grey Ukrainian, and Black Pied herds and those in the panel. Thus, the diversity panel may be useful for identification of genetic markers associated with economically important traits in cattle, evaluation of purebred and crossbred animals, and, probably, for tentative estimation of allele frequencies in commercial populations.

Key words: cattle, breed, *Bos taurus*, DNA panel, genetic diversity, conservation genetics, SNPs, *TNF-alpha* gene, *SDF1* gene.

УДК 575.17:902.01:572.08

РАЗНООБРАЗИЕ ЛИНИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ГЕНОФОНДЕ НАСЕЛЕНИЯ ПРИБАЙКАЛЬЯ ЭПОХИ НЕОЛИТА И РАННЕЙ БРОНЗЫ

© 2014 г. Р.О. Трапезов¹, А.С. Пилипенко¹, В.И. Молодин²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия,
e-mail: rostislav@bionet.nsc.ru, alexpil@bionet.nsc.ru;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт археологии и этнографии Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 2 августа 2014. Принята к публикации 11 сентября 2014 г.

В работе представлены результаты исследования выборки образцов митохондриальной ДНК (N = 15) из останков представителей населения Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы (VI–III тыс. до н. э.). В составе генофонда исследуемой древней популяции обнаружены варианты гаплогрупп D, G2a C, Z, и F1b, относящихся к восточно-евразийскому кластеру митохондриальной ДНК. Результаты сравнительного анализа исследуемой группы с древними и современными популяциями различных регионов Евразии свидетельствуют, что основным механизмом формирования состава населения Байкальского региона было развитие автохтонных генетических компонентов восточно-евразийского происхождения. В формировании генофонда популяций Прибайкалья также играли роль генетические контакты с населением сопредельных районов Центральной Азии.

Ключевые слова: Восточная Сибирь, Прибайкалье, неолит, эпоха ранней бронзы, митохондриальная ДНК человека, древняя ДНК, палеогенетика, этногенетические реконструкции.

ВВЕДЕНИЕ

Формирование коренного населения Байкальского региона длительное время исследуется методами археологии, физической антропологии и этногеномики. Современное коренное население региона представлено многочисленными монголоязычными и тюркоязычными народами. Генофонд митохондриальной ДНК (мтДНК) этих популяций характеризуется преобладанием компонентов восточно-евразийского происхождения (Derenko *et al.*, 2003, 2007; Starikovskaya *et al.*, 2005). По данным краниометрии, современные коренные популяции региона относятся к различным вариантам центральноазиатского и байкальского типов монголоидной расы (Алексеев, 1974).

Археологические материалы свидетельствуют, что человек анатомически современного типа населял южные районы Восточной Сибири (включая Прибайкалье) начиная с финального верхнего палеолита (не менее 20 тыс. лет назад) (Окладников, 1950, 1955; Raghavan *et al.*, 2014). Данные физической антропологии и археологии демонстрируют восточно-евразийское происхождение основных групп раннего населения (Алексеев, 1961). При этом анализ отдельных верхнепалеолитических археологических и одонтологических материалов Байкальского региона указывает на наличие признаков их западно-евразийского происхождения. В частности, такие признаки были зафиксированы на материалах верхнепалеолитических стоянок у с. Мальта и у с. Буреть, что выделяет их на фоне

других памятников юга Восточной Сибири эпохи палеолита (Окладников, 1941; Герасимов, 1958; Зубов, Гохман, 2003; Turner, Scott, 2007). Результаты палеогенетического анализа единичных останков человека из этих стоянок подтвердили наличие западно-евразийских компонентов в их ядерном и митохондриальном геномах (Raghavan *et al.*, 2014).

Наиболее ранний серийный палеоантропологический материал с территории Прибайкалья был получен археологами для периода неолита и ранней бронзы (VI–III тыс. до н. э.) (Окладников, 1950, 1955). Показано, что неолитические культуры в регионе сформировались на местной палеолитической основе, т. е. являются автохтонными для юга Восточной Сибири. В материальной культуре населения этого периода отсутствуют элементы западно-евразийского происхождения. Результаты антропологического исследования черепов с территории Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы свидетельствуют, что данные группы населения характеризуются восточно-евразийскими краниометрическими признаками (Дебец, 1948, 1951; Алексеев, 1961).

К настоящему моменту охарактеризованы древние этнокультурные группы, населявшие Прибайкалье с эпохи неолита до позднего средневековья. В частности, разработана обоснованная классификация археологических культур региона эпохи неолита и ранней бронзы и дана их подробная характеристика. Население региона в этот период было представлено носителями китойской (эпоха неолита, конец VI–середина V тыс. до н. э.), серовской (эпоха неолита, конец V–середина IV тыс. до н. э.) и глазковской (эпоха ранней бронзы, IV–конец III тыс. до н. э.) археологических культур.

Наличие серийного палеоантропологического материала от представителей населения Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы, пригодного для исследования методами палеогенетики, позволяет реконструировать ранние этапы этногенетических процессов в регионе на основании исследования структуры генофонда древнего населения.

Данная работа посвящена анализу разнообразия генофонда мтДНК населения Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы и реконструкции некоторых аспектов форми-

рования генетического состава популяций региона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили фрагменты посткраниального скелета и зубы от 17 представителей населения Прибайкалья периода неолита и ранней бронзы следующих археологических культур из нескольких могильников: китойская (могильник Борки-1 – 1 индивид), серовская (Хужир-Ольхон – 6 индивидов; Усть-Анга – 1 индивид; Манзурок – 1 индивид) и глазковская (Обхой – 5 индивидов; Хатарук – 1 индивид; Эдуганка – 1 индивид; Макарово – 1 индивид). Для 10 индивидов палеоантропологические образцы были представлены зубами, для 7 – фрагментами посткраниального скелета. В исследование были включены образцы от скелетов высокой макроскопической сохранности, имеющие достоверную маркировку и культурную принадлежность.

Предварительную обработку палеоантропологического материала и экстракцию ДНК проводили методами, описанными ранее (Piliipenko *et al.*, 2010; Пилипенко и др., 2011). После механической и химической деконтаминации палеоантропологических образцов из них получали мелкодисперсный порошок, который инкубировали в 5М гуанидинтиоционатном буфере (pH 8,0) (для фрагментов посткраниального скелета) или декальцинировали в 0,5 М ЭДТА и инкубировали в буфере с протеиназой К (для зубов). Экстракцию ДНК проводили фенол/хлороформным методом.

Аmplификацию участка ГВС I мтДНК проводили с применением двух вариантов ПЦР: 1) амплификация фрагмента ГВС I мтДНК в позиции 16074–16366 (согласно нумерации уточненной Кембриджской референсной последовательности (Andrews *et al.*, 1999)) в виде одного ампликона методом «вложенной ПЦР» (Пилипенко и др., 2008); 2) амплификация фрагмента ГВС I мтДНК в позиции 15997–16409 в виде четырех перекрывающихся ампликонов методом одноразовой ПЦР (Haak *et al.*, 2005).

Для некоторых образцов древней мтДНК проводили клонирование продуктов ПЦР в бактериальном векторе с помощью набора pGEM-T® Easy Vector System (Promega, США)

с последующим секвенированием нескольких клонов.

Секвенирующую реакцию проводили с использованием наборов ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v. 1.1 и v. 3.1 (Applied Biosystems, США). Результаты анализировали на автоматическом капиллярном секвенаторе ABI Prism 3130XL Genetic Analyser и ABI 3730XL Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) в центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН (<http://sequest.niboch.nsc.ru>, Новосибирск).

Анализ полученных последовательностей мтДНК осуществляли с помощью программы DNA Baser v. 3.5.4.2. (Heracle BioSoft S.R.L., Румыния). Для определения структуры гаплотипов ГВС I мтДНК последовательности древней ДНК сравнивали с уточненной Кембриджской референсной последовательностью мтДНК (Andrews *et al.*, 1999). Определение принадлежности мтДНК к гаплогруппам и гаплотипам проводили с использованием программного инструмента HaploGrep (<http://haplogrep.uibk.ac.at/>) (Kloss-Brandstatter *et al.*, 2011), на основе современной классификации мтДНК (<http://www.phylotree.org/>, версия 16 от 19 февраля 2014 г.) (van Oven, Kayser, 2009).

Для проведения филогеографического анализа использовали базу данных по структуре ГВС I мтДНК из опубликованных источников, включающую более 25 тыс. образцов из современных популяций Евразии.

Межпопуляционные различия исследованного древнего населения с другими древними и современными популяциями Евразии по составу гаплогрупп в генофонде мтДНК оценивали по дистанции Fst (Slatkin, 1994) программой Arlequin v.3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2005). Уровень значимости дистанций Fst оценивали методом Монте-Карло, число перестановок – 100, уровень значимости $P = 0,05$. Многомерное шкалирование, основанное на матрице попарных различий Fst, было проведено с помощью программы XLStat (www.addinsoft.com).

Все стадии работы с древним материалом до амплификации ДНК проводились в изолированном помещении, специально оборудованном для работы с древней ДНК, с использованием одежды для чистых помещений, лицевых масок, очков, стерильных перчаток. Все рабочие

поверхности в помещении регулярно обрабатывались 5 %-м раствором гипохлорита натрия и облучались ультрафиолетом. Для работы использовались только стерильные реактивы и пластиковая посуда. Контрольные пробирки чистоты системы (без добавления палеоматериала) проходили через полную процедуру экстракции и амплификации параллельно с древними образцами для выявления возможного загрязнения используемых реактивов и оборудования. Для всех работающих с древней ДНК сотрудников была определена последовательность нуклеотидов ГВС I мтДНК.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После предварительной обработки палеоантропологического материала, экстракции ДНК и оценки ее качества было получено 15 образцов ДНК, пригодных для исследования молекулярно-генетическими методами. Для них установлены последовательности нуклеотидов ГВС I мтДНК (участок 15997–16409). Путем сравнения структуры ГВС I мтДНК представителей населения неолита и ранней бронзы Прибайкалья с уточненной Кембриджской референсной последовательностью мтДНК выявлены специфические нуклеотидные замены и определены гаплотипы мтДНК исследованных индивидов (табл.).

Среди исследованных образцов мтДНК выявлено 9 гаплотипов ГВС I (митотипов). Структура исследованных вариантов позволяет однозначно определить их принадлежность к конкретным гаплогруппам мтДНК. В исследованной выборке присутствуют варианты 5 гаплогрупп, относящихся к восточно-евразийскому кластеру мтДНК: D, G2a C, Z (производные макрогаплогруппы M) и F1b (производная макрогаплогруппы R).

С наибольшей частотой в выборке представлена гаплогруппа D (7 образцов). В исследованной серии присутствуют как корневой вариант гаплогруппы D (образцы № 1, 2, 3 и 4), так и его производные (2 гаплотипа, образцы № 5, 6 и 7). Также в серии выявлено по два структурных варианта гаплогрупп G2a (образцы № 8, 9 и 10) и Z (образцы № 13 и 14). Каждая из гаплогрупп C (образцы № 11 и 12) и F1b (образец № 15) представлена одним структурным вариантом.

Таблица

Результаты генотипирования мтДНК представителей населения Прибайкалья
эпохи неолита и ранней бронзы (IV–III тыс. до н. э.)

№	Нуклеотидные замены в ГВС I мтДНК*	Гаплогруппа мтДНК	Могильник	Археологическая культура
1	223-362	D	Хужир-Ольхон	Серовская
2	223-362	D	Обхой	Глазковская
3	223-362	D	Борки-1	Китойская
4	223-362	D	Эдуганка	Глазковская
5	223-260-362	D	Хужир-Ольхон	Серовская
6	223-260-362	D	Хужир-Ольхон	Серовская
7	223-319-362	D	Макарово	Глазковская
8	223-227-278-362	G2a	Манзурок	Серовская
9	223-227-278-362	G2a	Обхой	Глазковская
10	223-227-262-278-362	G2a	Обхой	Глазковская
11	223-298-327	C	Хужир-Ольхон	Серовская
12	223-298-327	C	Обхой	Глазковская
13	185-189-223-260-298	Z	Хужир-Ольхон	Серовская
14	129-185-223-224-260-298	Z	Хужир-Ольхон	Серовская
15	189-232CA-249-304-311	F1b	Усть-Анга	Серовская

* Позиции варьируемых нуклеотидов (–16000) приведены в соответствии с уточненной Кембриджской референсной последовательностью мтДНК человека (rCRS) (Andrews *et al.*, 1999).

Анализ литературных данных показал, что для генофонда мтДНК современного населения Байкальского региона характерна высокая представленность гаплогрупп D и C (Derenko *et al.*, 2003, 2007). При этом наибольшее разнообразие структурных вариантов выявлено для гаплогруппы D, что соотносится с полученными нами данными по генофонду мтДНК древнего населения. Современные популяции отличаются от исследованной нами древней группы населения Прибайкалья диверсифицированным состоянием гаплогруппы C.

Гаплогруппы G2a и F1b (включая варианты, идентичные обнаруженным нами в генофонде исследуемого древнего населения) с разной частотой представлены в генофонде большинства исследованных ранее древних и современных популяций Байкальского региона и сопредельных территорий Центральной Азии (Yao *et al.*, 2002; Derenko *et al.*, 2003, 2007; Keyser-Tracqui *et al.*, 2003; Mooder *et al.*, 2006).

Гаплогруппа Z демонстрирует низкую частоту и разнообразие вариантов в современных популяциях региона. Выявленный нами в древней

серии гаплотип (129-185-223-224-260-298) был встречен в генофонде мтДНК бурят (Derenko *et al.*, 2007). Представляет интерес наличие этого варианта в генофонде населения эпохи развитой бронзы Кольского полуострова (Sarkissian *et al.*, 2013).

Сравнение полученных нами данных с результатами работы Mooder с соавт. (2006), посвященной анализу мтДНК неолитического населения Прибайкалья, выявило как сходства, так и различия между двумя сериями образцов древней мтДНК. Линии гаплогрупп D, C, G2a и F1b присутствуют в обеих сериях, совпадая, по всей видимости, на уровне структуры гаплотипов. В изученной авторами выборке присутствовали западно-евразийские компоненты (линии гаплогруппы U5a) и варианты восточно-евразийской гаплогруппы A, которые не были обнаружены в исследуемой нами серии. Присутствие линий гаплогруппы Z, напротив, было выявлено только в нашей выборке представителей древнего населения Прибайкалья.

Результат сравнительного анализа исследуемой нами группы древнего населения с

древними и современными популяциями различных регионов Евразии по составу и частотам гаплогрупп мтДНК отображен на рисунке. Исследуемая популяция Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы объединилась в один кластер с группами современного населения Байкальского региона и сопредельных территорий Южной Сибири и Центральной Азии, а также с популяцией хунну (начало I тыс. н. э.) из Северной Монголии (Keyser-Tracqui *et al.*, 2003). Относительная удаленность серии неолитического населения Прибайкалья (исследованная в работе К.Р. Моодер с соавт. (2006)) на графике от других популяций региона, по-видимому, связана с присутствием в ней выраженного западно-евразийского компонента, не характерного для большинства других групп древнего и современного населения юга Восточной Сибири.

ОБСУЖДЕНИЕ

При выполнении данного исследования помимо строгого соблюдения общепринятых требований к условиям проведения эксперимента было получено несколько прямых и косвенных свидетельств достоверности экспериментальных данных: результаты анализа ДНК из нескольких независимых экстрактов и результаты повторных ПЦР из каждого экстракта полностью совпадают; полученные результаты демонстрируют отсутствие в исследованной древней серии структурных вариантов мтДНК, идентичных мтДНК исследователей (палеоантропологов и палеогенетиков), контактировавших с палеоантропологическими материалами до или в процессе их палеогенетического исследования или же имевших доступ в чистые помещения в период проведения эксперимента;

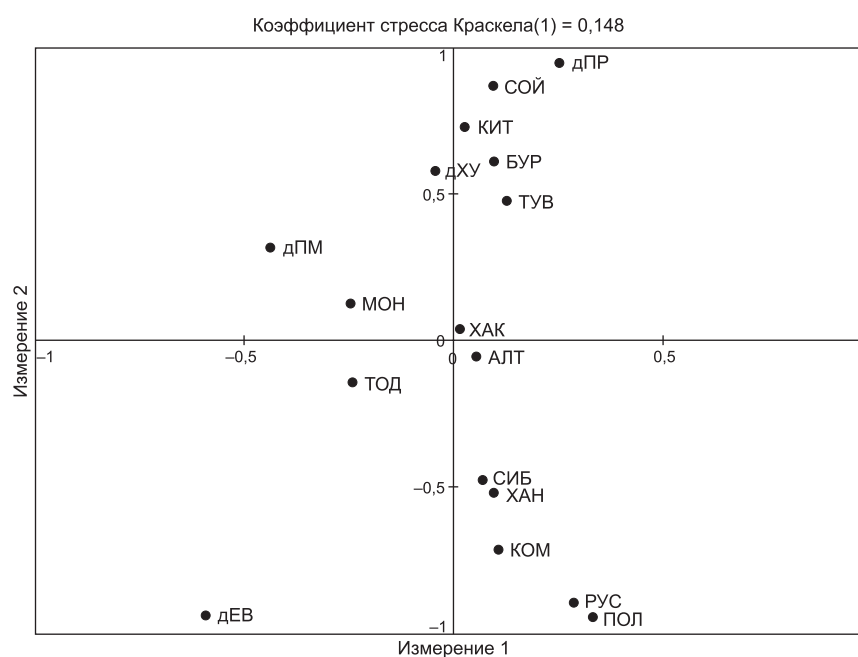


Рис. Положение исследованного населения Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы и некоторых других древних и современных популяций Евразии на графике, отражающем результаты многомерного шкалирования, основанного на матрице популяционных различий F_{st} (по данным о частотах гаплогрупп мтДНК в популяциях).

Популяции: АЛТ – алтайцы (Derenko *et al.*, 2003); БУР – буряты (Derenko *et al.*, 2007); ДЕВ – палеолитические и мезолитические охотники-собиратели Центральной и Восточной Европы (Bramanti *et al.*, 2009); дПМ – неолитическое население Прибайкалья (Mooder *et al.*, 2006); дПР – население Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы (Данная работа); дХУ – популяция хунну (начало I тыс. н.э.) Северной Монголии (Keyser-Tracqui *et al.*, 2003); КИТ – китайцы (Yao *et al.*, 2002); КОМ – коми (Губина и др., 2005); МОН – монголы (Derenko *et al.*, 2004); ПОЛ – поляки (Malyarchuk *et al.*, 2002); РУС – русские (Malyarchuk *et al.*, 2002); СОЙ – сойоты (Derenko *et al.*, 2003); СИБ – сибирские татары (Наумова и др., 2008); ТОД – тоджинцы (Derenko *et al.*, 2003); ТУВ – тувинцы (Derenko *et al.*, 2003); ХАК – хакасы (Derenko *et al.*, 2003); ХАН – ханты (Губина и др., 2005).

клонирование ПЦР-продуктов в бактериальном векторе и секвенирование нескольких клонов для части образцов мтДНК позволили выявить характерную для древней ДНК вырожденность последовательности клонов, являющуюся результатом дезаминирования цитозина; для исследуемых образцов установлена характерная для древней ДНК обратная зависимость между размером амплифицируемого фрагмента ДНК и эффективностью ПЦР; присутствие большинства выявленных вариантов мтДНК в генофонде древнего населения Прибайкалья выглядит логичным в свете имеющихся данных по филогеографии соответствующих кластеров мтДНК, полученных при исследовании современного населения Евразии. Перечисленные факторы позволяют считать полученные нами палеогенетические данные достоверными.

Прибайкалье входит в зону доминирования восточно-евразийского влияния в отношении как материальной культуры древнего населения, так и генетического состава коренных популяций (Окладников, 1950, 1955; Алексеев, 1961; Derenko *et al.*, 2003, 2007). Отсутствие в исследованной нами серии западно-евразийского компонента позволяет заключить, что зона распространения популяций со смешанной структурой генофонда мтДНК, охватывающая в пределах Северной Евразии Западную Сибирь и сопредельные регионы, не распространялась на восток до Прибайкалья (Molodin *et al.*, 2012; Sarkissian *et al.*, 2013). По-видимому, ее восточная граница в эпоху позднего неолита и ранней бронзы располагалась между реками Обь и Енисей. Следует подчеркнуть, что под смешанной структурой генофонда мтДНК мы подразумеваем присутствие наряду с восточно-евразийским хорошо выраженного (не спорадического) западно-евразийского компонента, свидетельствующего, что смешение генетических линий западного и восточного происхождения являлось одним из основных механизмов формирования состава населения. Очевидно, что основной вклад в состав населения Прибайкалья внесли восточно-евразийские популяции. Вместе с тем имеющиеся палеогенетические данные не позволяют отрицать наличия спорадических западно-евразийских компонентов в генофонде древнего населения рассматриваемого региона. В частности, в ра-

боте Mooder с соавт. (2006) было показано, что наряду с доминирующими восточно-евразийскими линиями мтДНК в генофонде населения Прибайкалья эпохи неолита присутствовали отдельные варианты гаплогруппы U5a. Их отсутствие в нашей выборке свидетельствует, что западно-евразийский компонент не был широко распространен в популяциях региона и встречался спорадически. На наш взгляд, его происхождение может быть связано с проникновением в регион охотников-собирателей из западных регионов Северной Евразии, в генофонде которых доминировали варианты гаплогруппы U. Обнаружение вариантов гаплогруппы U у двух представителей верхнепалеолитического населения Прибайкалья (Raghavan *et al.*, 2014) свидетельствует, что ее присутствие могло быть в генофонде населения региона отголоском древних событий заселения Северо-Западной Евразии анатомически современными людьми в палеолите. Этот реликтовый признак в генофонде населения Байкальского региона, по-видимому, выражен крайне слабо уже в эпоху неолита в силу доминирования восточного влияния при формировании популяций в голоцене. Очевидно, что процесс редкого спорадического проникновения населения из западных областей Евразии в Восточную Сибирь не являлся ключевым механизмом в формировании популяций региона. Кроме того, варианты гаплогруппы U, обнаруженные в генофонде мтДНК представителей верхнепалеолитического населения Восточной Сибири (Raghavan *et al.*, 2014) и популяции эпохи неолита (Mooder *et al.*, 2006), могут иметь независимое происхождение в результате разновременных генетических контактов с популяциями Западной Евразии.

В составе исследуемой серии следует отметить большое разнообразие восточно-евразийского кластера на уровне гаплогрупп. Анализ филогеографии выявленных линий мтДНК с использованием данных по современным популяциям Евразии свидетельствует, что они наиболее характерны для генофонда населения юга Восточной Сибири (включая Прибайкалье) и сопредельных регионов Центральной Азии (Монголия и север Китая) (Kolman *et al.*, 1996; Comas *et al.*, 1998; Derenko *et al.*, 2003, 2007; Metspalu *et al.*, 2004). Таким образом, структура генофонда мтДНК Байкальского региона

сформировалась на автохтонной основе при взаимодействии с генетически родственными популяциями сопредельных районов Центральной Азии.

С предположением о формировании состава населения на автохтонной основе согласуется локализация в Центральной Азии (включая юг Восточной Сибири) вторичных очагов диверсификации некоторых восточно-евразийских гаплогрупп мтДНК (Derenko *et al.*, 2010). В частности, на территории юга Сибири и прилегающих районов Центральной Азии могла происходить диверсификация гаплогруппы D. Об этом свидетельствуют высокая частота и разнообразие ее вариантов в генофонде мтДНК современных этнических групп Байкальского региона. Полученные нами данные о диверсифицированном состоянии гаплогруппы D в генофонде населения Прибайкалья в эпоху позднего неолита и ранней бронзы также согласуются с данной гипотезой.

Низкое по сравнению с современными популяциями региона разнообразие вариантов гаплогруппы C, зафиксированное нами для населения неолита и ранней бронзы Прибайкалья (как и в работе Moodey с соавт. (2006)), по-видимому, связано с расположением очагов диверсификации этой гаплогруппы за пределами Байкальского региона.

Анализ имеющихся палеогенетических данных свидетельствует, что варианты гаплогруппы Z в период неолита и в эпоху бронзы характеризовались более широким распространением в Северной Евразии по сравнению с современными популяциями (Molodin *et al.*, 2012). Особенно интересным является факт присутствия общего варианта гаплогруппы Z (с гаплотипом 129-185-223-224-260-298) в исследуемом нами генофонде населения Прибайкалья и в серии образцов мтДНК эпохи развитой бронзы с территории Кольского полуострова (Sarkissian *et al.*, 2013). Это подтверждает наличие восточного вектора генетических связей древнего населения северо-востока Европы.

Таким образом, состав исследованной серии образцов мтДНК от представителей населения Прибайкалья эпохи неолита и ранней бронзы свидетельствует, что основу генофонда населения Байкальского региона сформировали автохтонные генетические элементы, отно-

сящиеся к восточно-евразийскому кластеру гаплогрупп мтДНК. Важную роль в формировании структуры генофонда мтДНК населения Байкальского региона, по-видимому, играли также генетические компоненты, происходящие из сопредельных районов Центральной Азии. Их проникновение на юг Восточной Сибири особенно интенсивно могло происходить после возникновения в центральноазиатском регионе больших объединений племен, ведущих кочевой образ жизни, на рубеже нашей эры и в последующие периоды (начиная с империи хунну). В результате происходило усиление подвижности генетического материала в центральноазиатском регионе и дальнейшая диверсификация генофонда мтДНК локальных групп населения, включая появление новых и увеличение разнообразия вариантов ранее присутствовавших в генофонде популяций гаплогрупп мтДНК (таких, как гаплогруппа C). Однако многие черты структуры генофонда мтДНК населения юга Восточной Сибири, сформировавшиеся уже к эпохе неолита и ранней бронзы, сохраняются в популяциях региона вплоть до возникновения современных коренных этнических групп.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-06-12063 офи_м.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев В.П. Антропологические типы Южной Сибири (Саяно-Алтайское нагорье) в эпоху неолита и бронзы. Вопросы истории Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск: СО АН СССР, 1961. С. 377–385.
- Алексеев В.П. География человеческих рас. М.: Мысль, 1974. 351 с.
- Герасимов М.М. Палеолитическая стоянка Мальта (раскопки 1956–1957 гг.) // Сов. этнография. М.: Изд-во АН СССР, 1958. № 3. С. 28–52.
- Губина М.А., Осипова Л.П., Виллемс Р. Анализ материнского генофонда по полиморфизму митохондриальной ДНК в популяциях хантов и коми Шурышкарского района ЯНАО // Коренное население Шурышкарского района Ямало-Ненецкого автономного округа: демографические, генетические и медицинские аспекты. Новосибирск, 2005. С. 105–117.
- Дебец Г.Ф. Палеоантропология СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. 391 с.
- Дебец Г.Ф. Заселение Южной и Передней Азии по данным антропологии // Происхождение человека и древнее расселение человечества. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. Т. 16. С. 355–370.
- Зубов А.А., Гохман И.И. Некоторые одонтологические

- данные по верхнепалеолитической стоянке Мальта // Вестн. антропологии. 2003. № 10. С. 14–23.
- Наумова О.Ю., Рычков С.Ю., Морозова И.Ю., Хаят С.Ш., Семиков А.В., Жукова О.В. Разнообразие митохондриальной ДНК у тоболо-иртышских сибирских татар // Генетика. 2008. Т. 44. № 2. С. 257–268.
- Окладников А.П. Палеолитические жилища в Бурети (по раскопкам 1936–1940 гг.) // Краткие сообщения Ин-та истории материальной культуры. 1941. Вып. 10. С. 16–31.
- Окладников А.П. Неолит и бронзовый век Прибайкалья: Историко-археологическое исследование. Ч. I, Ч. II. Материалы и исследования по археологии СССР. № 18. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950. 412 с.
- Окладников А.П. Неолит и бронзовый век Прибайкалья: Глазковское время. Ч. III. Материалы и исследования по археологии СССР. № 43. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1955. 374 с.
- Пилипенко А.С., Ромащенко А.Г., Молодин В.И., Куликов И.В., Кобзев В.Ф., Поздняков Д.В., Новикова О.И. Особенности захоронения младенцев в жилищах городища Чича-И Барабинской лесостепи по данным анализа структуры ДНК // Археология, этнография и антропология Евразии. 2008. № 2. С. 57–67.
- Пилипенко А.С., Молодин В.И., Ромащенко А.Г. Митохондриальная ДНК женщины из пещеры Каминная (Горный Алтай) эпохи позднего неолита // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. № 4. С. 633–643.
- Andrews R.M., Kubacka I., Chinnery P.F., Lightowlers R.N., Turnbull D.M., Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA // Nat. Genet. 1999. V. 23. P. 147.
- Bramanti B., Thomas M.G., Haak W., Unterlaender M., Jores P., Tambets K., Antanaitis-Jacobs I., Haidle M.N., Jankauskas R., Kind C.-J., Lueth F., Terberger T., Hiller J., Matsumura S., Forster P., Burger J. Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and central Europe's first farmers // Science. 2009. V. 326. No. 326. P. 137–140.
- Comas D., Calafell F., Mateu E., Perez-Lezaun A., Bosch E., Bosch E., Martinez-Arias R., Clarimon J., Facchini F., Fiori G., Luiselli D., Pettener D., Bertranpetit J. Trading genes along the Silk Road: mtDNA sequences and the origin of Central Asian populations // Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 63. P. 1824–1838.
- Derenko M.V., Grzybowski T., Malyarchuk B.A., Dambueva I.K., Denisova G.A., Czarny J., Dorzhu C.M., Kakpakov V.T., Miscicka-Sliwka D., Wozniak M., Zakharov I.A. Diversity of mitochondrial DNA lineages in South Siberia // Ann. Hum. Genet. 2003. V. 67. P. 391–411.
- Derenko M.V., Lunkina A.V., Malyarchuk B.A., Zakharov I.A., Tsedev Ts., Park K.S., Cho Y.M., Lee H.K., Chu. Ch.H. Restriction polymorphism of mitochondrial DNA in Koreans and Mongolians // Russ. J. Genet. 2004. V. 40. P. 1562–1570.
- Derenko M., Malyarchuk B., Grzybowski T., Denisova G., Dambueva I., Perkova M., Dorzhu C., Luzina F., Lee H.K., Vanacek T., Vilems R., Zakharov I. Phylogeographic analysis of mitochondrial DNA in Northern Asian populations // Am. J. Hum. Genet. 2007. V. 81. P. 1025–1041.
- Derenko M., Malyarchuk B., Grzybowski T., Denisova G., Rogalla U., Perkova M., Dambueva I., Zakharov I. Origin and post-glacial dispersal of mitochondrial DNA haplogroups C and D in Northern Asia // PLoS ONE. 2010. V. 5. No. 12. e15214.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinform. Online. 2005. V. 1. P. 47–50.
- Haak W., Forster P., Bramanti B., Matsumura S., Brandt G., Tanzer M., Vilems R., Renfrew C., Gronenborn D., Alt K.W., Burger J. Ancient DNA from the first European farmers in 7500-year-old neolithic sites // Science. 2005. V. 305. P. 1016–1018.
- Keyser-Tracqui C., Crubezy E., Ludes B. Nuclear and mitochondrial DNA analysis of a 2,000 year-old necropolis in the Egyin Gol Valley of Mongolia // Am. J. Hum. Genet. 2003. V. 73. P. 247–260.
- Kloss-Brandstatter A., Pacher D., Schonherr S., Weissensteiner H., Binna R., Specht G., Kronenberg F., HaploGrep: A fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups // Hum. Mutat. 2011. V. 32. P. 25–32.
- Kolman C.J., Sambuughin M., Bermingham E. Mitochondrial DNA analysis of Mongolian population and implications for the origin of New World founders // Genetics. 1996. V. 142. No. 4. P. 1321–1334.
- Molodin V.I., Piliipenko A.S., Romaschenko A.G., Zhuravlev A.A., Trapezov R.O., Chikisheva T.A., Pozdnyakov D.V. Human migrations in the southern region of the West Siberian Plain during the Bronze Age: archaeological, palaeogenetic and anthropological data // Population Dynamics in Prehistory and Early History: New Approaches Using Stable Isotopes and Genetics / Eds E. Kaiser, J. Burger, W. Schier. Berlin; Boston: De Gruyter, 2012. P. 95–113.
- Malyarchuk B.A., Grzybowski T., Derenko M.V., Czarny J., Wozniak M., Miscicka-Sliwka D. Mitochondrial DNA variability in Poles and Russians // Ann. Hum. Genet. 2002. V. 66. P. 261–283.
- Metspalu M., Kivisild T., Metspalu E., Parik J., Hudjashov G., Kaldma K., Serk P., Karmin M., Behar D.M., Gilbert M.T.P., Endicott P., Mastana S., Papiha S.S., Skorecki K., Torroni A., Vilems R. Most of the extant mtDNA boundaries in South and Southwest Asia were likely shaped during the initial settlement of Eurasia by anatomically modern humans // BMC Genetics. 2004. V. 5. P. 26.
- Mooder K.P., Schurr T.G., Bamforth F.J., Bazaliiski V.I., Savel'ev N.A. Population affinities of neolithic siberians: a snapshot from prehistoric Lake Baikal // Am. J. Phys. Anthropol. 2006. V. 129. P. 349–361.
- Piliipenko A.S., Romaschenko A.G., Molodin V.I., Parzinger H., Kobzev V.F. Mitochondrial DNA studies of the Pazyryk people (4th to 3rd centuries BC) from northwestern Mongolia // Archaeol. Anthropol. Sci. 2010. V. 2. P. 231–236.
- Raghavan M., Skoglund P., Graf K.E., Metspalu M., Albrechtsen A., Moltke I., Rasmussen S., Stafford T.W. Jr., Orlando L., Metspalu E., Karmin M., Tambets K., Rootsi S., Mägi R., Campos P.F., Balanovska E., Balanovsky O., Khusnutdinova E., Litvinov S., Osipova L.P., Fedorova S.A., Voevoda M.I., DeGiorgio M., Sicheritz-Ponten T., Brunak S., Demeshchenko S., Kivisild T., Vilems R., Nielsen R., Jakobsson M., Willerslev E. Upper palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans // Nature. 2014. V. 505. No. 7481. P. 87–91.

- Sarkissian C.D., Balanovsky O., Brandt G., Khartanovich V., Buzhilova A., Koshel S., Zaporozhchenko V., Gronenborn D., Moiseyev V., Kolpakov E., Shumkin V., Alt K.W., Balanovska E., Cooper A., Haak W. The genographic consortium. Ancient DNA reveals prehistoric gene-flow from Siberia in the complex human population history of North East Europe // *PLoS Gen.* 2013. V. 9. e1003296.
- Slatkin M. An exact test for neutrality based on the Ewens sampling distribution // *Genet. Res.* 1994. V. 64. No. 1. P. 71–74.
- Starikovskaya E.B., Sukernik R.I., Derbeneva O.A., Volodko N.V., Ruiz-Pesini E., Torroni A., Brown M.D., Lott M.T., Hosseini S.H., Huoponen K., Wallace D.C. Mitochondrial DNA diversity in indigenous populations of the southern extent of Siberia, and the origins of Native American haplogroups // *Ann. Hum. Genet.* 2005. V. 69. P. 67–89.
- Turner C.G., Scott G.R. The dentition of American Indians: evolutionary results and demographic implications following colonization from Siberia // *Handbook of Paleoanthropology* / Eds W. Henke, T. Hardt, I. Tattersall. 2007. V. 3. P. 1901–1942.
- van Oven M., Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation // *Hum. Mutat.* 2009. V. 30. P. 386–394.
- Yao Y.G., Kong Q.P., Bandelt H.J., Kivisild T., Zhang Y.P. Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 70. P. 635–651.

MITOCHONDRIAL DNA DIVERSITY IN THE GENE POOL OF THE NEOLITHIC AND EARLY BRONZE AGE CISBAIKALIAN HUMAN POPULATION

R.O. Trapezov¹, A.S. Pilipenko¹, V.I. Molodin²

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: rostislav@bionet.nsc.ru, alexpil@bionet.nsc.ru;

² Institute of Archaeology and Ethnography, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Summary

Molecular analysis of mitochondrial DNA samples (N = 15) of the Neolithic and Early Bronze Age population from the Cis-Baikal region has been performed. East Eurasian haplogroups (D, G2a C, Z, F1b) were identified in the mitochondrial gene pool. The results of phylogeographical analysis suggest that the development of autochthonous East Eurasian genetic components played a major role in the formation of Baikalian populations. Genetic interactions with populations from neighboring regions of Central Asia also contributed to the gene pool structure of the Cisbaikalian population.

Key words: East Siberia, Cisbaikalia, Neolithic, Early Bronze Age, human mitochondrial DNA, ancient DNA, paleogenetics, ethnogenetic processes.

УДК 58.084.1

СТАДИЯ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА, ОПТИМАЛЬНАЯ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ОПЫЛЕНИЯ, ВАРЬИРУЕТ В РОДЕ ГОРОХ (*Pisum* L.)

© 2014 г. О.Э. Костерин, В.С. Богданова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 1 ноября 2013 г. Принята к публикации 18 июля 2014 г.

С целью оптимизировать процедуру искусственного опыления для разных видов и подвидов гороха у 8 образцов, принадлежащих таксонам *Pisum fulvum*, *Pisum sativum* ssp. *elatius* (дикие), *P. abyssinicum* и *P. sativum* ssp. *sativum* (культивируемые), сравнивалась эффективность искусственного опыления (среднее число семян на один опыленный цветок) собственной пылью при использовании трех способов опыления: 1) сразу после кастрации бутона на стадии до раскрытия пыльников; 2) после раскрытия цветка, кастрированного на той же стадии (отложенное опыление), и 3) двукратное опыление, как в методах (1) и (2). У культурных форм эффективность опыления всеми тремя способами не различалась. У диких форм метод (2) по сравнению с методом (1) показал сходные или лучшие результаты, а метод (3) показал результаты, сравнимые с таковыми для метода (2). Для образца 721 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) с особо крупными цветками метод 2 (отложенное опыление) оказался в 12 раз эффективнее метода (1). Для дикорастущих форм гороха можно рекомендовать отложенное опыление.

Ключевые слова: дикий горох, *Pisum* L., искусственное опыление, самоопыление.

ВВЕДЕНИЕ

Искусственное опыление было одной из первых экспериментальных технологий в генетике. Г. Мендель (Mendel, 1866) потратил годы на методическую подготовку своих экспериментов, включая выбор гороха в качестве экспериментального объекта и отработку процедуры скрещивания, и прекратил свои исследования закономерностей наследования, когда не сумел выработать эффективный метод искусственного опыления для ястребинки (*Hieracium*) (Nogler, 2006). Процедура скрещивания со времен Менделя не изменилась. Лодочка разрезается или удаляется прежде чем венчик приобретает антоциановую окраску и раскрывается, пыльники удаляются путем обрывания тычиночных нитей пинцетом и нужная пыльца наносится на рыльце без необходимости в какой-либо

защите от дальнейшего опыления. Процедура основывается на двух допущениях: а) пестик приобретает компетенцию к опылению до раскрытия венчика и б) после раскрытия венчика дальнейшее опыление маловероятно. Эти допущения подразумевают, что горох является облигатным самоопылителем. Действительно, у гороха пыльники раскрываются на стадии, когда бутон начинает приобретать антоциановое окрашивание, но еще не раскрылся. Однако цветки гороха привлекают пчелиных, и перекрестное опыление все же возможно до 30 % у некоторых местных форм южного происхождения (Loenning, 1984). Опыты по нанесению пыльцы на рыльца раскрытых цветков показали, что на этой стадии пестик все же сохраняет компетенцию к опылению, т. е. в это время некоторые семяпочки остаются неоплодотворенными собственной пылью (Bogdanova, Berdnikov, 2000).

Результаты скрещиваний отдаленных форм гороха для проверки их репродуктивной совместимости (Неопубл.) дали основание заподозрить, что стандартная процедура скрещивания может не быть оптимальной для некоторых дикорастущих представителей рода. Это побудило нас исследовать данный вопрос специально. Чтобы исключить эффекты несовместимости, мы сравнили результат искусственного опыления своей собственной пылью 8 форм гороха тремя разными методами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованные в работе гомогенные и гомозиготные образцы приведены в табл. 1.

Растения выращивались в теплице в гидроронных стеллажах, наполненных смесью керамзита и вермикулита, с подачей стандартного раствора Кнопа дважды в сутки и при искусственном освещении 10 000–12 000 люкс в течение 16 ч в сутки, в вегетации январь–апрель 2010 г., октябрь–декабрь 2010 г. и март–май

Таблица 1

Исследованные образцы гороха, признаки их цветков, среднее (i) и максимальное (m) число семян в бобе при самоопылении в выборках объема n

Образец	Место происхождения	Признаки цветков	i ($\pm$ ст. ошибка), n	m
<i>Pisum fulvum</i> Sibth et Smith, дикорастущий вид из Передней Азии				
WL2140	Израиль, Иерусалим, Долина Креста	по 1–2 на цветонос, небольшие, полностью раскрытые, с коротким парусом	$2,85 \pm 0,06$ $n = 315$	5
<i>Pisum abyssinicum</i> A. Br., культивируется в Эфиопии и Йемене				
VIR2759	Эфиопия	по 1 на цветонос, небольшие	$4,08 \pm 0,17$ $n = 64$	7
<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>elatius</i> (Bieb.) Schmahl. s. l., дикорастущий подвид из Средиземноморья				
L100 (=J13273; =712 in Ben-Ze'ev, Zohary, 1973)	Израиль, 10 км южнее Беер-Шевы	по 1, изредка по 2 на цветонос, цветоножка направлена под углом к оси цветоноса, небольшие, широкооткрытые, парус слегка укорочен	$3,62 \pm 0,21$ $n = 37$	6
VIR320	«Палестина»	по 1, изредка по 2 на цветонос, укорачивающийся к более высоким узлам, небольшие, широкооткрытые	$4,87 \pm 0,11$ $n = 239$	9
721 (in Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; =J13262)	Израиль, г. Кармель, 5 км северо-западнее Зихон Яаакова	по 1 на очень длинном, дугообразно изогнутом цветоносе, крупные, широкооткрытые, парус непропорционально увеличен, около 3,5 см шириной	$4,06 \pm 0,36$ $n = 32$	7
J11794	Израиль/Сирия (спорная территория). Голанские высоты, Тель Абу Нида	по 1 на очень коротком цветоносе, мелкие, крылья узкие, парус не вполне раскрывается и остается свернутым, так что наибольшую ширину цветок имеет у основания, пигментация очень слабая	$3,70 \pm 0,29$ $n = 36$	6
CE1 (=J12629)	Украина, Крым, Симеиз	по 1 на коротком цветоносе, мелкие, кажутся узкими и заостренными, крылья узкие, парус не вполне раскрывается и остается свернутым, пигментация очень слабая	$2,75 \pm 0,14$ $n = 110$	6
<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>sativum</i> L., cultivated worldwide				
WL1238	Тестерная линия	по 2, редко по 1 на очень коротком цветоносе, крылья редуцированы (kk); пигментация почти отсутствует (kk bb)	статистических данных нет	8

2012 г., далее обозначаемые как «весна 2010», «осень 2010» и «весна 2012».

Бутоны кастрировались посредством сагиттального разрезания лодочки и удаления пыльников пинцетом за несколько часов до появления антоциановой пигментации. Цветки образцов Л1794 и СЕ1 слабопигментированы, их бутоны кастрировались на той же стадии, будучи оцениваемы по размеру и форме. Пестики опылялись пылью, взятой у того же самого образца, одним из трех способов:

1) сразу после кастрации (немедленное опыление, стандартный);

2) когда венчик уже раскрыт и окрашен (отложенное опыление). Это происходило на следующий день после кастрации у всех образцов, кроме 721. У этого образца с очень крупными цветками развитие их занимает больше времени, поэтому их приходилось опылять по способу (2) на второй день после кастрации.

3) дважды, как при способах (1) и (2) (двукратное опыление).

Все три метода применялись случайным образом к цветкам с одних и тех же растений. Около 30 скрещиваний было проведено весной 2010 и 2012 гг. О.Э. Костериным и осенью 2010 г. В.С. Богдановой. Семена собирались индивидуально с каждого боба весной 2010 и 2012 гг., но в единые выборки для каждого образца и способа скрещивания осенью 2010 г.

Для каждого образца и способа подсчитывалось число проведенных скрещиваний (C), бобов (P) и семян (N), а также вычислялось среднее число бобов на скрещивание ($p = P/C$), семян на боб ($s = N/P$) и семян на скрещивание ($e = N/C$); последний параметр отражал эффективность скрещивания.

Значения параметров при трех способах опыления сравнивались у одних и тех же образцов в один и тот же сезон. Параметр p – выборочная оценка вероятности формирования боба после скрещивания; различия его значений оценивались как различия экспериментальных частот после ϕ -преобразования Фишера (Fischer, 1953) посредством t -критерия Велша, представляющего собой обобщение t -критерия Стьюдента для случая произвольных вариантов (Welsh, 1947). Параметр s – вероятность оплодотворения, умноженная на число семян на пестике, – представляет собой количественный

признак, зависящий от континуальных факторов, но округленный до целых величин. Параметр e есть произведение p и s , являясь, таким образом, суперпозицией случайных событий разного типа. Распределение экспериментальных численностей по e идентично таковому по s , за исключением того, что к нулевому классу добавлено число скрещенных цветков, которые не образовали бобов. В тех случаях, когда бобы собирались индивидуально, мы подсчитывали число семян в индивидуальных бобах (S), вычисляли дисперсию этого параметра σ_S^2 , а также дисперсию σ_E^2 , полагая $S=0$ для каждого скрещивания, не завершившегося образованием боба, и использовали эти дисперсии для оценки существенности различий средних s и e с помощью критерия Уэлша.

В весеннюю генерацию 2013 г. на выборках индивидуальных бобов было подсчитано число семян, образовавшихся за счет естественного самоопыления, его среднее i и среднеквадратическое отклонение также приведены в табл. 1 в качестве характеристики образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Численные данные и значения параметров представлены в табл. 2. Для скрещиваний осени 2010 г. у нас отсутствуют данные по индивидуальным бобам. Заметим, однако, что в тех случаях, когда такие данные имеются, у всех образцов, кроме 721 и СЕ1, среднеквадратические отклонения σ_s и σ_E незначительно варьировали от способа к способу. Поэтому для статистических сравнений данных осени 2010 г. мы использовали наивысшее (с целью избежать переоценки различий) значение дисперсии каждого параметра из полученных весной 2012 г. Например, для данных осени 2010 г. по образцу VIR2759 мы принимали 1,76 в качестве значения σ_E для всех трех способов. Для образца Л1794 у нас не было данных по весне 2012 г., и мы в качестве значения как σ_s , так и σ_E t , принимали 2,00 (чуть выше, чем значения, наблюдаемые для VIR2759, показавшего значения s и e , очень близкие к Л1794).

У большинства образцов значение p слабо варьировало в зависимости от способа опыления. У VIR320 для способа (2) оно было почти вдвое больше, чем для способов (1) и (3) при

Таблица 2

Число скрещиваний (C) образцов гороха самих на себя, проведенных тремя способами:
 немедленное опыление (способ (1)), отложенное опыление (способ (2))
 и двукратное опыление (способ (3), детали в тексте),
 число образовавшихся бобов (P) и семян (N), среднее число бобов на скрещивание (p),
 среднее число семян на боб (s), среднее (e , эффективность)
 и среднеквадратическое отклонение (σ_E) числа семян на скрещивание

Образец, вегетация	Способ	C	P	S	p	s	e	σ_E
WL2140 осень 2010 г.	1	42	32	81	0,76	2,53* ₂	1,93* ₂	
	2	30	27	89	0,90	3,22	2,90	
	3	39	32	91	0,82	2,84	2,33	
WL2140 весна 2012 г.	1	38	33	90	0,87** ₃	2,73 ± 0,20	2,37 ± 0,23	1,40
	2	36	28	86	0,78	3,07 ± 0,22	2,39 ± 0,28	1,66
	3	38	22	71	0,58	3,23 ± 0,25	1,87 ± 0,30	1,85
VIR2759 осень 2010 г.	1	41	21	75	0,51	3,57	1,83	
	2	35	16	43	0,46	2,69	1,23* ₃	
	3	27	19	57	0,70	3,00	2,11	
VIR2759 весна 2012 г.	1	37	19	32	0,51	1,68 ± 0,46	0,86 ± 0,27	1,65
	2	36	29	58	0,81** _{1,3}	2,00 ± 0,33	1,61 ± 0,29	1,76
	3	30	17	19	0,56	1,12 ± 0,36	0,63 ± 0,23	1,25
L100 (=712) осень 2010 г.	1	54	33	79	0,61	2,39* ₃	1,46*** ₃	
	2	34	25	79	0,74	3,16	2,32	
	3	48	40	141	0,83	3,52	2,94	
L100 (=712) весна 2012 г.	1	37	25	86	0,68	3,44 ± 0,29* ₂	2,32 ± 0,33*** ₂	2,03
	2	30	28	122	0,93	4,36 ± 0,34	4,07 ± 0,37** ₃	2,05
	3	38	27	103	0,71	3,81 ± 0,26	2,71 ± 0,34	2,09
Л1794 осень 2010 г.	1	30	15	18	0,50	1,20	0,60	
	2	33	23	25	0,70	2,24	0,76	
	3	29	17	38	0,59	1,09	1,31	
721 (=Л3262) весна 2010	1	38	4	4	0,11*** _{2,3}	1,00 ± 0,41** _{2,3}	0,11 ± 0,06** _{2,3}	0,39
	2	34	13	45	0,40	3,46 ± 0,70	1,32 ± 0,39	2,29
	3	25	11	49	0,44	4,46 ± 0,87	1,96 ± 0,58	2,92
CE1 (=Л2629) весна 2010	1	34	25	31	0,74	1,24 ± 0,41	0,91 ± 0,31	1,82
	2	30	23	31	0,77	1,35 ± 0,26	1,03 ± 0,23	1,25
	3	26	20	22	0,77	1,10 ± 0,26	0,85 ± 0,22	1,12
VIR320 весна 2010	1	34	16	41	0,47	2,56 ± 0,44* ₃	1,21 ± 0,30*** ₃	1,75
	2	37	18	70	0,90*** _{1,3}	3,89 ± 0,62	1,89 ± 0,44** ₃	2,66
	3	30	27	113	0,49	4,19 ± 0,40	3,77 ± 0,43	2,34

Окончание таблицы 2

Образец вегетация	Способ	<i>C</i>	<i>P</i>	<i>S</i>	<i>p</i>	<i>s</i>	<i>e</i>	σ_E
WL1238 весна 2010	1	26	18	48	0,69	2,67 ± 0,29	1,85 ± 0,32	1,62
	2	28	18	44	0,64	2,44 ± 0,45	1,57 ± 0,37	1,93
	3	31	25	68	0,81	2,72 ± 0,30	2,19 ± 0,31	1,72
WL1238 весна 2012	1	36	23	59	0,64	2,57 ± 0,24	1,64 ± 0,26	1,55
	2	34	27	83	0,79	3,07 ± 0,37	2,44 ± 0,36	2,11
	3	28	20	57	0,74	2,85 ± 0,35	2,04 ± 0,35	1,86

После ± приведена стандартная ошибка. * $P < 0,01$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ для различий между способами опыления, цифры нижнего индекса указывают на то, для сравнения с каким(и) из способов они приведены (например, ***_{2,3} при значении для способа (1) указывает на значимость его отличия от значений для способов (2) и (3)).

высокой статистической достоверности различий (соответственно $t = 4,16$ и $3,86$; $P < 0,001$). Образец 721 оказался исключительным, продемонстрировав вчетверо меньшее значение p (0,11) для способа (1) (при котором в 38 проведенных скрещиваниях сформировалось только 4 боба) по сравнению со способами (2) – 0,40 и (3) – 0,44, также при высокой достоверности различий ($t = 2,94$ при сравнении способов (1) и (2) и $3,01$ при сравнении способов (1) и (3), $P < 0,01$). Два других случая статистически значимых различий ($P < 0,01$) были умеренны по величине (около полутора раз) и наблюдались весной 2012 г., но не в аналогичном эксперименте осенью 2010 г.: более высокое значение для способа (1) по сравнению со способом (3) у WL2140 и более высокое значение для способа (2) по сравнению со способами (1) и (3) у VIR2759.

Значение параметра s также в большинстве случаев варьировало от способа к способу незначительно. Это означает, что (а) если боб сформировался, количество семян мало зависит от времени опыления, и (б) второе опыление не повреждает пестика, но и не добавляет семян. Наиболее сильные эффекты – на 1 %-м уровне значимости; увеличение приблизительно в 3,5 и 4,5 раза соответственно для способов (2) и (3) по сравнению со способом (1) наблюдалось у образца 721. У VIR320 наблюдались эффекты тех же направления и амплитуды, но с меньшей статистической существенностью (уровень значимости 5 % для сравнения способов (1) и (3)). Небольшие эффекты с 5 %-м уровнем значи-

мости у WL2140 и L100 не воспроизвелись в разные годы: у WL2140 некоторое превосходство способа (2) над способом (1) не было статистически значимым весной 2012 г., тогда как у L100 способ (1) давал существенно меньшие значения по сравнению со способом (3) осенью 2010 г. и со способом (2) весной 2012 г.

Небезынтересно сравнить среднее число семян в бобе после скрещивания (табл. 2) со средним числом семян в бобе при самоопылении, i (табл. 1). Заметим, что последнее оказалось много меньше, чем максимально возможное число семян в бобе (табл. 1). У большинства образцов значение s как минимум для некоторых способов было сравнимо со значением i . У JI2140, VIR320, L100 (весенний опыт) и 721 некоторые из значений s даже превосходили значения i . Только у JI1794 наибольшее значение s (в случае способа (2)) составляло лишь 60 % от значения i , а у CE1 наибольшее значение s (в случае того же способа) составляло 71 % от значения i . К сожалению, значения s и i , будучи полученными в разные годы, не вполне сопоставимы; в то же время эти данные свидетельствуют о том, что как минимум один из способов всегда обеспечивает достаточное опыление.

Значение e , т. е. среднее число полученных семян на одно скрещивание, показало статистически значимые различия между способами опыления у 5 образцов (JI2140, VIR2759, JI3723, 721, VIR320) и не показало их у образцов JI1794, CE1 и WL1238. Однако в случаях, когда один и тот же образец участвовал в опытах как осенью 2010 г., так и весной 2012 г., результаты

воспроизвелись только у WL1238. У JI2140 и VIR2759 статистически значимые эффекты наблюдались осенью 2010 г. и не наблюдались весной 2012 г. У L100 некоторые различия были высокодостоверны, но не воспроизводились в отношении направления: значение e для способа (1) было приблизительно вдвое выше, чем для способа (3) осенью 2010 г., а весной 2012 г. эти способы дали сходные результаты, тогда как значение для способа (2) оказалось в полтора раза больше. У 320 значение e увеличилось от способа (1) к способу (2) и далее к способу (3), так что при способах (1) и (3) оно различалось почти втрое при высокой значимости разницы между способом (3) и двумя другими.

Наиболее сильный эффект наблюдался у образца 721, у которого значение e показало более чем десятикратное увеличение от способа (1) к способу (2) (с 0,11 до 1,32, $t = 3,04$, 35 степеней свободы (d.f.), $P < 0,01$) и далее увеличилось еще примерно в полтора раза (хотя и статистически незначимо: $t = 0,91$, 44 d.f., $P < 0,3$) к способу (3).

Среднее число бобов на скрещивание (p) нельзя интерпретировать однозначно. Боб может не сформироваться по двум причинам: а) если не оплодотворена ни одна семяпочка, хотя в таких случаях могут появляться небольшие пустые бобы (особенно часто у VIR2759, CE1 и JI1794; засчитываются как бобы с 0 семян) и б) если пестик повреждается механически. Однако наиболее травмоопасной процедурой является кастрация, которая проводилась идентично для всех трех способов. Опыление – процедура более тонкая, но три способа различались именно ею. Мы могли бы ожидать, что повреждение пестика во время опыления более вероятно при способах (1) и (3), когда пинцет прикасается к более уязвимому молодому пестику, чем при использовании метода (2). У VIR320 мы действительно сталкиваемся с ситуацией, когда значение p оказывается много больше для способа (2), чем для двух других способов; небольшие различия того же рода наблюдались у VIR2759 весной 2012 г., но не у других образцов. Четырехкратное уменьшение значения p при способе (1) по сравнению со способами (2) и (3) не может быть отнесено на счет механического повреждения и, вероятно, имеет место вследствие неоплодотворения семяпочек.

Эффективность скрещиваний, e , – наиболее важный для нас параметр. Будучи произведением p и s , этот параметр мог бы аккумулировать незначительную изменчивость последних. Однако наши данные показывают, что статистически значимые различия значений e конкордантны значениям s , часто с несколько большей значимостью различий, но не p (в весеннем опыте 2012 г. WL2140 и VIR2759 продемонстрировали значимые различия способов опыления для значений p , но не e). Можно заключить, что эффективность скрещиваний ограничивается неопылением семяпочек, а не повреждением пестика.

Относительно значений e мы имели следующие теоретические ожидания:

- если они больше для способов (1) и (3), чем для способа (2), компетенция пестика к опылению максимальна в еще закрытом бутоне и данный генотип является самоопылителем;

- если они одинаковы для всех трех способов, семяпочки становятся рецептивными в еще закрытом бутоне, но если они при этом не оплодотворяются, то сохраняют рецептивность и в уже раскрытом цветке, причем данный генотип все еще является самоопылителем;

- если они уменьшаются от способа (1) к способу (3), временное окно рецептивности каждой семяпочки довольно коротко, но временное окно, в течение которого разные семяпочки становятся рецептивными, начинается на стадии закрытого бутона и продолжается после раскрытия венчика, а генотип сочетает самоопыление с перекрестным опылением;

- если они больше для способов (2) и (3) по сравнению со способом (1), компетентность пестика максимальна у раскрытого цветка, генотип же является преимущественно перекрестником.

Плохая воспроизводимость результатов для 3 (WL2140, VIR2759 и L100) из 4 образцов, для которых проводились повторные опыты, свидетельствует о том, что эффективность скрещиваний зависит от неких факторов, которые мы не учитывали. В осеннюю тепличную генерацию растения получают меньше естественного освещения из-за короткого светового дня и низкого положения солнца, в весеннюю генерацию температура в теплице гораздо выше (возможно, в нашем случае это самый важный фактор). В

результате мы можем обсуждать только сильные эффекты, связанные со значением e .

В наши опыты было вовлечено только две культурных, причем независимо domesticiрованных, формы гороха: культивируемый по всему миру *P. sativum* ssp. *sativum* (представлен WL1238) и эндемичный для Йемена и Эфиопии *P. abyssinicum* (представлен VIR2759). Для них различий между способами опыления в значении e не наблюдалось, за исключением небольшого падения в случае способа (2) у VIR2759 в эксперименте осени 2010 г. Это означает, что оба образца являются самоопылителями – ожидаемое следствие неосознанного отбора в культуре при дефиците опылителей. Таким образом, для культурного гороха лучше всего подходит стандартная процедура скрещивания.

Остальные 6 образцов представляли дикорастущие формы: WL2140 относится к хорошо очерченному виду *Pisum fulvum*, остальные 5 – дикорастущие представители *P. sativum*, в настоящее время условно объединяемые в рыхлый подвид *P. sativum* ssp. *elatius* в широком смысле. Для всех этих образцов и во всех опытах способ (2) давал большие значения e , чем способ (1), хотя у CE1 (в единственном опыте весной 2010 г.), у WL2140 весной 2012 г. и у L100 осенью 2010 г. эти различия не были статистически значимыми. В остальных случаях они свидетельствовали о том, что пестик сохраняет компетенцию к опылению после раскрытия венчика, что означает способность к спонтанному перекрестному опылению, которое в естественных условиях может быть адаптивным. Это касается образцов 721, VIR320 и, возможно, JI2140 и L100, у которых эффект был слабее и не воспроизвелся в одном из двух опытов. У 721 и VIR320 значение e увеличивалось от способа (1) к способам (2) и (3), хотя различия были значимыми не во всех случаях.

Образец 721, представляющий форму высокого габитуса, выходящая по кустарникам и деревьям маквиса (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973),

исключителен в том отношении, что его пестик оказался компетентным к опылению в основном после раскрытия венчика. Это хорошо сочетается с особенностями его цветков: они очень крупные, с непропорционально большим парусом, расположены на длинных цветоносах. Нет сомнений, что этот дикий горох адаптирован именно к перекрестному опылению.

Хотя исследованные представители дикого гороха показали несколько различные результаты, отложенное опыление (способ (2)) может быть рекомендовано для скрещивания любого дикого гороха, поскольку по сравнению со стандартной процедурой (способ (1)) оно дает те же или лучшие результаты. Двукратное опыление (способ (3)) более трудоемко, будучи комбинацией обоих вышеупомянутых способов, и, как оказалось, в большинстве случаев приблизительно столь же эффективно, как способ (2). Стандартную процедуру (способ (1)) можно рекомендовать для культурных форм.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00516 и бюджетным проектом VI.53.1.3.

ЛИТЕРАТУРА

- Ben-Ze'ev N., Zohary D. Species relationship in the genus *Pisum* L. // Israel J. Bot. 1973. V. 22. P. 73–91.
- Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. A study of potential ability for cross-pollination in pea originating from different parts of the world // *Pisum Genet.* 2000. V. 32 P. 16–17.
- Fischer R. Design of Experiment. Edinburgh, L.: Oliver and Boud, 1953.
- Loenning W.-E. Cross fertilization in peas under different ecological conditions // *Pisum Newslett.* 1984. V. 16. P. 38–40.
- Mendel G. Versuche über Pflanzenhybriden // Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn. 1866. Bd. IV für das Jahr. 1865 (Abhandlungen). S. 3–47.
- Nogler G.A. The lesser-known Mendel: his experiments on *Hieracium* // *Genetics.* 2006. V. 172. P. 1–6.
- Welch B.L. The generalisation of «Student's» problem when several different population variances are involved // *Biometrika.* 1947. V. 34. P. 28–35.

PEA (*Pisum* L.) ACCESSIONS DIFFER IN THE STAGE OF FLOWER DEVELOPMENT BEST FOR POLLINATION

O.E. Kosterin, V.S. Bogdanova

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

Summary

In order to optimize artificial pollination in various pea species and subspecies, the efficiency of artificial pollination was analyzed in eight accessions belonging to *Pisum fulvum*, *Pisum sativum* ssp. *elatius* (wild), *P. abyssinicum*, and *P. sativum* ssp. *sativum* (cultivated). Mean numbers of seeds per flower pollinated with its own pollen were determined in three pollination methods: 1) immediately after bud castration before anther dehiscence, 2) after the dehiscence of a flower castrated at the same stage (delayed pollination), and 3) double pollination as in methods (1) and (2). These methods did not differ in efficiency in cultivated accessions. In wild ones, method (2) was similar to (1) or better, whereas method (3) was comparable in efficiency with method (2). Method (2) (delayed pollination) was 12 times as efficient as method (1) in accession 721 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*), possessing very large flowers. Delayed pollination is recommended for wild pea varieties.

Key words: wild pea, *Pisum* L., artificial pollination, self-pollination.

УДК 634.18:631.527.5 + 577.21

**ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯДОЛЕЙ И ISSR-МАРКЕРОВ
ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГИБРИДОВ
МЕЖДУ *SORBUS SIBIRICA* HEDL.
И *SORBOCOTONEASTER POZDNIJAKOVII* POJARK.**

© 2014 г. **С.В. Асбаганов, Е.В. Кобозева, А.В. Агафонов**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный Сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия,
e-mail: cryonus@mail.ru

Поступила в редакцию 24 октября 2013 г. Принята к публикации 18 июля 2014 г.

Показана возможность использования методов электрофореза запасных белков семян (SDS PAAG) и межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR) для идентификации гибридных генотипов при гибридизации *Sorbus sibirica* Hedl. (рябина сибирская) и *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark. (рябинокизильник Позднякова). У гибридов наблюдается рекомбинация молекулярно-генетических и морфологических признаков, что свидетельствует о близком родстве их геномов и, следовательно, о перспективности использования рябинокизильника в селекции рябины. Полученные результаты подтверждают данные о происхождении *Sorbocotoneaster* Pojark. в результате гибридизации *Sorbus* L. и *Cotoneaster* Medik.

Ключевые слова: рябинокизильник, рябина, межродовая гибридизация, молекулярные маркеры.

ВВЕДЕНИЕ

Рябинокизильник (*Sorbocotoneaster* Pojark.) – узколокальный эндемик Южной Якутии, находящийся под угрозой исчезновения (Коропачинский, Встовская, 2012). Он занесен в список «Редких и исчезающих растений Сибири» (1980 г.), в «Красную книгу Республики Саха (Якутия)» (2001 г.) и «Красную книгу РФ» (2008 г.). Рябинокизильник Позднякова (*Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark.) – единственный представитель гибридного рода *Sorbocotoneaster*, возникшего от спонтанной гибридизации между *Sorbus* L. и *Cotoneaster* Medik.

По мнению А.И. Поярковой, «приуроченность рябинокизильника к растительной формации, характеризующейся комплексом реликтовых видов плейстоценового возраста, допускает предположение, что и возникновение этого межродового гибрида следует датировать этим же возрастом» (Петрова и др., 1992. С. 75–76).

На наш взгляд, рябинокизильник может оказаться донором ценных признаков в селекции рябины, поскольку характеризуется комплексом необходимых для рябины признаков: хорошей зимостойкостью, низкорослостью, скороплодностью, самоплодностью, отсутствием горечи и терпкости в плодах, хорошей укореняемостью черенков.

Однако при отдаленной гибридизации рябины семена могут завязываться не только в результате истинной гибридизации, но и в результате стимулятивного апомиксиса (Liljefors, 1953, 1955; Robertson *et al.*, 2004). Поскольку от момента получения гибридных семян до плодоношения проходят годы и затрачиваются значительные ресурсы, то необходимо иметь экспресс-методы, позволяющие диагностировать гибридность полученных семян и проводить раннюю селекцию сеянцев. Это дало бы возможность существенно сократить затраты, связанные со сложной и длительной пред-

посевной подготовкой семян и многолетним выращиванием бесполезных для дальнейшей работы сеянцев.

Нами была поставлена следующая цель: определить возможность использования методов электрофореза запасных белков семядолей (SDS PAAG) и межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR) для идентификации гибридных генотипов при гибридизации *S. sibirica* и *S. pozdnjakovii*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали семена и свежие или замороженные хранившиеся при -20°C листья кизильника черноплодного (*Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex Biytt.), кизильника цельнокрайнего (*Cotoneaster integerrimus* Medik.), кизильника блестящего (*Cotoneaster lucidus* Schlecht.), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), рябины сибирской (*Sorbus sibirica* Hedl.), рябинокизильника Позднякова (*Sorbo-cotoneaster pozdnjakovii* Pojark.) и гибридов F_1 (*S. sibirica* $\times$ *S. pozdnjakovii*).

Для экстракции и электрофоретического разделения запасных белков семян использовали SDS-гелево-буферную систему U.K. Laemmli (1970), адаптированную для объектов исследования.

Для размягчения оболочки семян перед экстракцией их замачивали в дистиллированной воде на 24 ч. Препаровальной иглой делали надрез семенной оболочки и через отверстие выдавливали зародыш.

Для экстракции белков одну семядолю зародыша растирали пестиком в 0,2 мл эппендорфе в 5 мкл дистиллированной воды, другую – в 5 мкл SDS-экстрагирующего буфера, содержащего трис-HCl pH = 6,8, глицерин, воду в соотношении 4 : 1 : 5, 3 %-й SDS и краситель бромфеноловый синий. Далее доводили объемы воды и буфера до 100 мкл. Экстракт перемешивали на вортексе 5–10 с и инкубировали при комнатной температуре – 3–4 ч или при $+4^{\circ}\text{C}$ – 12–18 ч. После этого снова встряхивали на вортексе 2–3 с и центрифугировали при 13 000 об/мин 5 мин. Экстракт разделялся на 3 фракции: нерастворимые осадок и верхнюю фракцию и раствор в промежуточной фазе. Из промежуточной фазы отбирали 50–70 мкл раст-

вора. Полученный экстракт разделяли на две части. Одну смешивали в соотношении 2 : 1 с 20 %-м раствором 2-меркаптоэтанола (для разрушения четвертичной структуры белка в варианте +Me) в 1 $\times$ SDS-экстрагирующем буфере в варианте с SDS-экстракцией и 2 $\times$ SDS-экстрагирующем буфере в варианте с водным экстрактом. Для выравнивания концентрации с первым вариантом вторую часть смешивали в соотношении 2 : 1 с 1 $\times$ и 2 $\times$ SDS-экстрагирующим буфером. Экстракты прогревали 1,5 мин при 99°C в термоциклере, электрофоретическое разделение проводили в 1 мм 12,5 % ПААГ. В качестве маркеров молекулярных масс использовали стандартный набор белков Fermentas с диапазоном 14,4–116 кДа. Для точной идентификации каждого компонента была построена шкала относительной электрофоретической подвижности (ОЭП), позволяющая сравнивать результаты разных опытов в единой системе отсчета (Агафонов, Агафонова, 1992).

Для выделения ДНК использовали методику D.A. Puchooa (2004). Поскольку методика была значительно модифицирована, приводим ее полный вариант. 20 мг свежих или замороженных листьев растереть в керамической ступке с 2 мл экстрагирующего буфера, содержащего 2 %-й PVP-40, 5 %-й 2-меркаптоэтанол, 2 %-й СТАБ, 100 mM Tris-HCl, 2M NaCl, 20 mM EDTA. В чистый 1,5 мл эппендорф перенести 1,5 мл, добавить 5 мкл РНКазы, встряхнуть 5 с на вортексе и инкубировать 20 мин при 37°C , затем аккуратно перемешать и инкубировать еще 10 мин при 60°C . Центрифугировать 5 мин на 13 000 об/мин. Отобрать 800 мкл супернатанта в чистую пробирку. Добавить 700 мкл смеси хлороформа и изоамилового спирта (24 : 1), аккуратно перемешать до образования однородной эмульсии, инкубировать 15 мин при комнатной температуре (КТ). Центрифугировать 15 мин на 13 000 об/мин, супернатант перенести в чистую пробирку. Повторить очистку хлороформом. В чистую пробирку перенести 555 мкл супернатанта и осадить ДНК 1 мл 95 %-го этанола, аккуратно перемешивая до полного растворения спирта. Центрифугировать 5 мин на 13 000 об/мин. Жидкость слить, осадок промыть раствором, содержащим 75 %-й этанол, TE, 10 mM ацетат аммония и 10 mM ацетат натрия. Далее осадок

промыть 96 %-м этанолом. Спирт слить, центрифугировать 10 с на 2000 об/мин, отобрать остатки спирта пипеткой, осадок подсушить до исчезновения блеска. Осадок растворить 555 мкл смеси ТЕ и 5М NaCl (2 : 1), инкубировать 10 мин при КТ. Добавить 800 мкл хлороформа (24 : 1), перемешать и убедиться, что нерастворившаяся часть осадка плавает в растворе, а не прилипла к стенкам пробирки. Центрифугировать 10 мин на 13 000 об/мин. Перенести 500 мкл супернатанта в чистую пробирку и осадить 1 мл 95 %-го этанола, спирт слить, осадок промыть вначале 80 %-м, а затем 95 %-м этанолом, высушить и растворить в 200 мкл ТЕ или mQH₂O.

ПЦР проводили на амплификаторе C-1000 (Bio-Rad, USA) в объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала: 1,5 ед. Taq ДНК-полимеразы (Медиген, Россия, 5 ед/мкл); 1× Taq-буфер без Mg²⁺ (Медиген, Россия); 2,3 мМ MgCl₂; 0,8 мМ dNTPs (Медиген, Россия); 0,8 мМ ISSR-праймер (Медиген, Россия); раствор ДНК – 2 мкл, вода mQH₂O – до 25 мкл.

Амплификацию проводили по следующей программе: первичная денатурация при 95 °С – 2 мин; 38 циклов – денатурация 94 °С – 20 с, отжиг праймеров (Ta – температуры отжига и нуклеотидные последовательности указаны в табл. 2) – 45 с, элонгация – 1,5 мин; конечная элонгация – 7 мин.

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили в 1,5 %-м агарозном геле в 1× ТАЕ-буфере при напряжении 4 В/см.

Для количественной оценки полиморфизма использованных маркеров и определения уровня дивергенции между изученными генотипами полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которых наличие или отсутствие пептидных компонентов или ПЦР-фрагментов одинакового размера рассматривалось как состояние 1 и 0.

Для статистической обработки данных использовали пакет программ TREECON (version 1.3b) (Peer, Wachter, 1994). Генетические дистанции рассчитывали по Нею (Nei, Li, 1979), использовали формулу $GD_{xy} = 1 - 2N_{xy} / (N_x + N_y)$, где N_{xy} – число общих фрагментов для образцов x и y , N_x и N_y – число фрагментов для образцов x и y соответственно. Для построения дендро-

грамм применяли метод neighbor-joining (NJ) с bootstrap-поддержкой – 100 псевдореплик. Уровень полиморфизма (P) каждого праймера (в процентах) рассчитывали по формуле $P = 100 * N_p / N$, где N_p – число полиморфных фрагментов, N – общее число фрагментов.

Для изучения возможности гибридизации рябины с рябинокизильником в качестве материнских растений были выбраны две перспективные для интродукции и селекции формы рябины: ЦВР-5 – отборная форма *S. sibirica*, характеризующаяся крупноплодностью, хорошими вкусовыми качествами плодов и раскидистой формой кроны; БК-1 – межвидовой гибрид рябины F_1 (*Sorbus sambucifolia* (Cham. et Schlecht). M. Roem. (рябина бузинолистная) × *S. sibirica*), характеризующийся крупноплодностью, отсутствием горечи и терпкости в плодах, скороплодностью и низкорослостью. В качестве отцовского растения использовали форму рябинокизильника, произрастающую в коллекции дендрария ЦСБС и характеризующуюся хорошим вкусом плодов, низкорослостью, скороплодностью, самоплодностью, хорошей укореняемостью черенков, обильным плодоношением. Пыльцу выделяли из полураспустившихся бутонов и проверяли ее фертильность ацетокарминовым методом. Гибридизацию проводили в соответствии с методическими рекомендациями Я.С. Нестерова (Программа и методика ..., 1972).

Гибридные семена хранились высушенными при комнатной температуре и были заложены на непрерывную стратификацию 16.02.2012 г. при температуре 1–3 °С. Сеянцы выращивали при комнатной температуре с 16-часовым освещением под ДРЛ-лампой в течение 5 месяцев, после чего их перенесли в помещение с температурой 1–8 °С и с 6-часовым освещением. После прохождения периода покоя сеянцы вернули к прежнему режиму выращивания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По нашим данным, в условиях Новосибирска в 2011 г. семенная фертильность выбранной нами формы рябинокизильника составляла 59 %, пыльцевая фертильность – 92 %. Следует отметить, что высокая пыльцевая и семенная фертильность отдаленных гибридов является

признаком сбалансированности гибридного генома и свидетельствует о высоком уровне родства исходных видов.

Результаты проведенных в 2011 г. скрещиваний *S. sibirica* и F₁ (*S. sambucifolia* × *S. sibirica*) с *S. pozdnjakovii* представлены в табл. 1.

Поскольку для видов рода *Sorbus* в зависимости от индивидуальных особенностей растения и погодных условий характерно апомиктичное завязывание плодов (Liljefors, 1953, 1955; Robertson *et al.*, 2004), то помимо контроля самофертильности проводились скрещивания с яблоней Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck). Также для сравнения представлены сведения по свободному опылению (табл. 1).

По нашим данным, в 2011 г. в вариантах с самоопылением и опылением пылью *M. niedzwetzkyana* плоды не завязались, что свидетельствует о самостерильности форм ЦВПП-5 и БК-1 и снижает вероятность завязывания плодов путем стимулятивного апомиксиса. В вариантах со свободным опылением и при реципрокном скрещивании ЦВПП-5 и БК-1 наблюдался высокий процент завязываемости плодов и семян. Это свидетельствует о благоприятных

погодных условиях для гибридизации (при неблагоприятных погодных условиях завязываемость может отсутствовать или завязываются единичные плоды).

В комбинациях ЦВПП-5 и БК-1 с рябинокизильником завязываемость плодов составила 86,7 и 34,9 % соответственно. При свободном и реципрокном опылении этот показатель был выше 70 %. В комбинациях с рябинокизильником по сравнению с контрольными вариантами наблюдалось снижение семенной фертильности, но она все же оставалась относительно высокой – более двух семян на плод.

Таким образом, полученные результаты по скрещиваемости рябины и рябинокизильника свидетельствуют о достаточно большой вероятности завязывания гибридных семян. Однако на основании этих данных нельзя полностью исключить вариант апомиктичного образования плодов и семян.

Для достоверного определения гибридной или апомиктичной природы полученных семян мы использовали SDS PAAG метод. Поскольку данная работа была направлена на выявление возможности использования молекулярных

Таблица 1

Результаты скрещиваний *Sorbus sibirica* Hedl.
и F₁ (*Sorbus sambucifolia* (Cham. et Schlecht). M. Roem. × *S. sibirica*)
с *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark. и *Malus niedzwetzkyana* Dieck.

Материнское растение	Опылитель	Число опыленных цветков, шт.	Число завязавшихся плодов, шт.	Завязавшиеся плоды, %	Число выполненных семян, шт.	Число выполненных семян на плод, шт.
<i>S. sibirica</i> (ЦВПП-5)	<i>Sorbocotoneaster pozdnjakovii</i>	210	182	86,7	486	2,7
	<i>Malus niedzwetzkyana</i>	300	0	0,0	–	–
	Самоопыление	200	0	0,0	–	–
	Свободное опыление	200	146	73,0	505	3,5
	F ₁ (<i>S. sambucifolia</i> × <i>S. sibirica</i>) (БК-1)	200	154	77,0	336	2,2
F ₁ (<i>S. sambucifolia</i> × <i>S. sibirica</i>) (БК-1)	<i>Sorbocotoneaster pozdnjakovii</i>	175	61	34,9	129	2,1
	<i>Malus niedzwetzkyana</i>	125	0	0,0	–	–
	Самоопыление	100	0	0,0	–	–
	Свободное опыление	150	109	72,7	547	5,0
	<i>S. sibirica</i> (ЦВПП-5)	132	106	80,3	379	3,6

методов, то в силу ряда причин мы исследовали лишь один вариант скрещивания – *S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*.

Известно, что запасные белки растений подразделяются по типам растворимости на альбумины, глобулины, проламины и глютелины (Осборн, 1935). В связи с этим было необходимо уточнить тип растворимости и выбрать оптимальный метод экстракции белков семядолей исследуемых объектов. Для этой цели белки одной семядоли каждого семени экстрагировали в дистиллированной воде (экстрагируются водорастворимые альбумины), а другой – в SDS-буфере, который экстрагирует все названные типы белков. Полученные электрофореграммы представлены на рис. 1. Поскольку полипептидные спектры не различались по составу компонентов, то, следовательно, все экстрагируемые белки относятся к водорастворимым альбуминам. Варианты +Me и –Me имеют значительные отличия, что говорит о сложном полимерном строении части белков и, соответственно, о потенциально большей информативности спектров их субъединиц.

Поскольку экстракция в SDS-буфере сокращает процедуры, то в дальнейших экспериментах все экстракты были получены в этом буфере

в двух вариантах – с добавлением β-меркаптоэтанол (+Me) и без него (–Me).

На рис. 2 представлены SDS-электрофореграммы белков семядолей гибридных семян F₁ (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*) в сравнении с родительскими формами и электрофореграммами *C. lucidus* и *S. aucuparia*.

Полученные спектры запасных белков семядолей у гибридных семян и у семян исходных видов подтвердили гибридное происхождение семян в комбинации *S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*, а также гибридное происхождение *S. pozdnjakovii*. Возвратное скрещивание *S. pozdnjakovii* с *S. sibirica* приводит к образованию генотипов, значительно различающихся по набору альбуминовых компонентов, характерных для обоих родов.

Проявление у некоторых гибридов (образцы 4, 5, 6, 10) в варианте –Me компонентов, отсутствующих у родительских генотипов (рис. 2), можно объяснить гетерозиготностью родительских форм и, в особенности, сложным составом генома отцовского растения.

Использованный нами в скрещивании образец *S. pozdnjakovii* является сложным межродовым гибридом с неустановленным числом хромосом. По данным В.Н. Гладковой (1967),

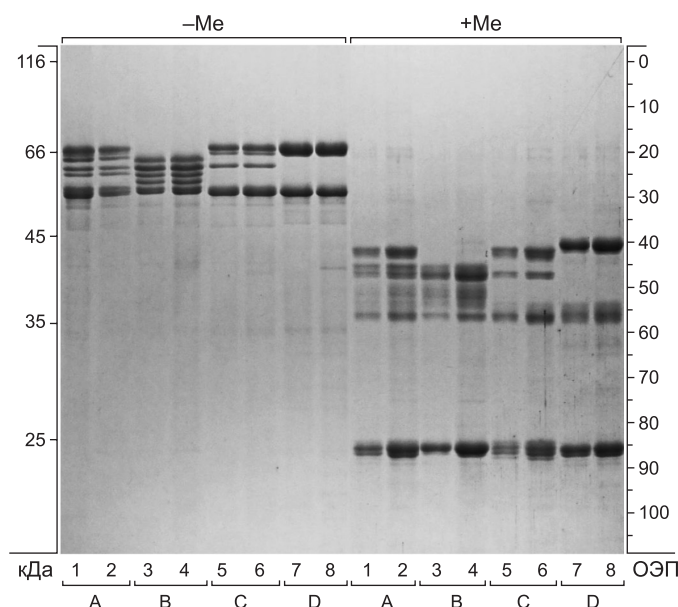


Рис. 1. SDS-электрофореграммы белков семядолей семян *S. pozdnjakovii* (A), *C. lucidus* (B), F₁ (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*) (C), *S. sibirica* (D).

1, 3, 5, 7 – водные экстракты; 2, 4, 6, 8 – SDS-экстракты. Полипептидные спектры отдельных семян в вариантах –Me и +Me.

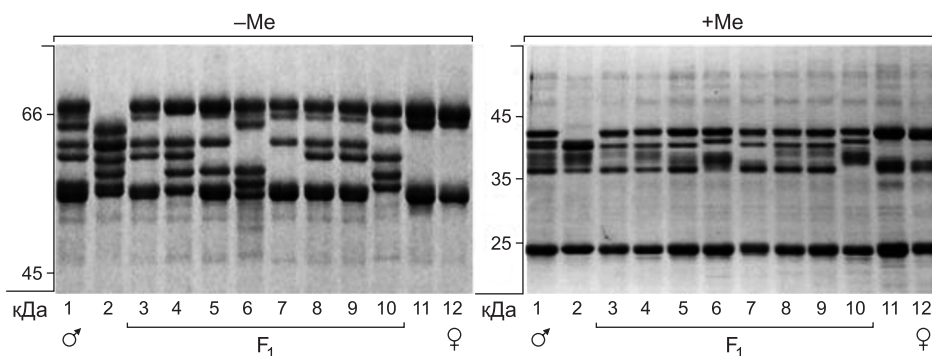


Рис. 2. SDS-электрофореграммы белков семядолей гибридных семян F_1 (*S. sibirica* $\times$ *S. pozdnjakovii*) в сравнении с родительскими формами.

1 – ♂ – отцовская форма *S. pozdnjakovii*; 2 – *C. lucidus*; 3–10 – F_1 – выборка гибридных семян; 11 – *S. aucuparia*; 12 – ♀ – материнская форма ЦВР-5 (*S. sibirica*). Полипептидные спектры отдельных семян в вариантах –Me и +Me.

хромосомный набор *Sorbocotoneaster* может быть $2n = 68, 85$. Неизвестно, сколько гаплов *Cotoneaster* и *Sorbus* содержит гибридный геном *Sorbocotoneaster* и какие гаметы он формирует. Например, не исключено образование мужских гамет, содержащих гапломы только одного из родительских видов из рода *Cotoneaster* или *Sorbus*. С учетом того что основной набор хромосом ($2n = 17$) в подсемействе *Maloideae* (*Rosaceae*) произошел в результате комбинации ($n = 7, 8$ или 9) древних гаплов (Evans, Campbell, 2002), в ситуации с рябинокизильником не исключены самые разнообразные варианты рекомбинации. Термин «рекомбинация» мы используем в широком смысле, поскольку для аллополиплоидных геномов, помимо кроссинговера и комбинационной аллельной изменчивости, характерны значительные перестройки, связанные с активацией мобильных элементов, эпигенетическими, транскриптомными и прочими изменениями (Щербань, 2013). Например, в результате таких перестроек возможны проявления молекулярных и морфологических новообразований или, напротив, спектров признаков, неотличимых или очень похожих на родительские.

На основе полученных данных нельзя убедительно судить о действительных филетических связях между *Sorbocotoneaster*, *Cotoneaster*, *Sorbus* и их гибридами. Для этих целей необходимы репрезентативные выборки представителей в каждом из трех родов. В наши задачи такой анализ не входил, так как основная цель состояла в том, чтобы показать на конкретном примере

возможность применения молекулярных методов для экспресс-контроля успешности гибридизации. Поскольку в данном анализе точно известны родительские генотипы, то, по нашему мнению, проявление в потомстве пептидных спектров, очень похожих на отцовский спектр, свидетельствует об успешности гибридизации и, следовательно, об эффективности использованного метода. Несомненно, что данный метод в комплексе с методами морфометрического и генетического анализа позволит решать и вопросы филогении.

На основе полученных полипептидных спектров в вариантах –Me и +Me были рассчитаны генетические дистанции и построена консенсусная NJ-дендрограмма (рис. 3). На дендрограмме родительские формы достоверно отделяются от гибридов, которые в зависимости от наследованной доли генов занимают промежуточное или более близкое к одному из родителей положение. Полученные данные свидетельствуют о протекании достаточно сбалансированного процесса рекомбинации при гибридизации рябинокизильника с рябиной сибирской, что, вероятно, обусловлено близким генетическим родством исходных форм на уровне гомологии их геномов.

Всхожесть гибридных семян после предварительной холодной стратификации в комбинации (*S. sambucifolia* $\times$ *S. sibirica*) (БК-1) $\times$ *S. pozdnjakovii* составила 89 %, в комбинации *S. sibirica* (ЦВР-5) $\times$ *S. pozdnjakovii* – 72 %. Каких-либо существенных нарушений в развитии сеянцев не наблюдалось, процент выпадов

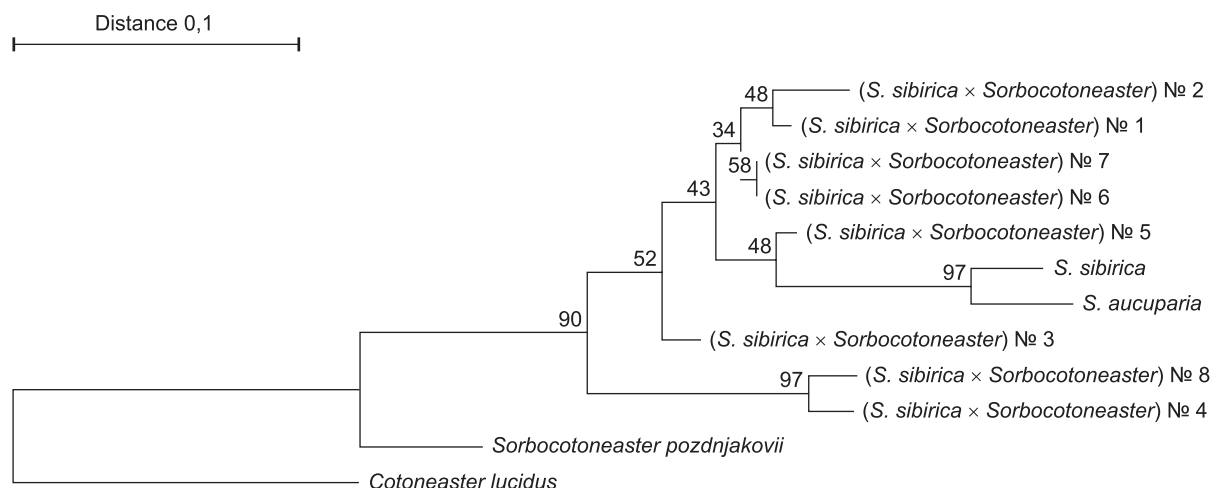


Рис. 3. Консенсусная дендрограмма (варианты –Me и + Me), построенная методом neighbor-joining (NJ) на основе данных по альбуминам семядолей отдельных семян *S. sibirica*, *S. pozdnjakovii*, *C. lucidus*, F_1 (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*).

Шкала сверху – генетические расстояния (по: М. Nei, W.-Li, 1979). Цифры над узлами показывают уровень статистической поддержки ветвей (bootstrap).

был незначительным. После прохождения покоя заметных нарушений в развитии сеянцев также не наблюдалось.

Все гибридные сеянцы в различных долях сочетали признаки родительских форм. По внешнему виду они были похожи на рябину, но имели нетипичное для рябины сибирской густое опушение нижней стороны листа и часто редкое опушение с верхней стороны. Верхняя часть листа за счет частичного или полного срастания центрального листочка с верхней парой боковых листочков имела характерное для рябинокизильника асимметричное строение (рис. 4).

Опушение побегов и центральных жилок листьев также было значительно более интен-

сивным, чем у рябины сибирской. Почти все гибридные сеянцы F_1 (*S. sambucifolia* × *S. sibirica*) (БК-1) × *S. pozdnjakovii*) наследовали от *S. sambucifolia* глянцевою поверхность листа.

Таким образом, высокий процент прорастания семян, полученных при половой гибридизации, и характер развития гибридных сеянцев свидетельствуют о хорошей жизнеспособности гибридных генотипов, а особенности морфологии листьев подтверждают их гибридное происхождение.

Однако в ряде случаев, особенно при гибридизации близкородственных форм, морфологические различия вегетативных органов могут быть недостаточны для идентифика-

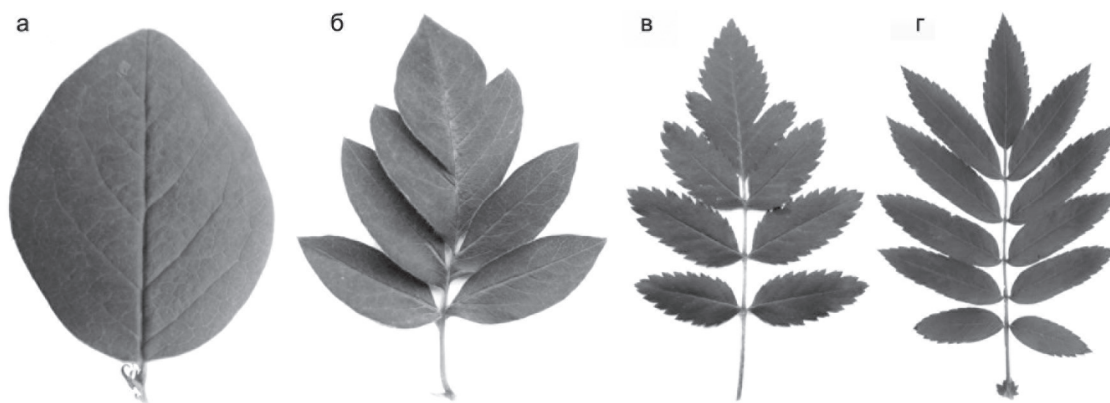


Рис. 4. Листья (а) – *C. melanocarpus*, (б) – *S. pozdnjakovii*, (в) – F_1 (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*), (г) – *S. sibirica*.

ции гибридных семян. В этих случаях для ранней диагностики и селекции гибридных генотипов могут быть использованы молекулярно-генетические методы. Одним из самых распространенных и информативных методов является анализ электрофоретических спектров межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR).

Проведенный нами предварительный скрининг 20 ISSR праймеров позволил отобрать 6 наиболее информативных маркеров по числу синтезируемых полиморфных ДНК-фрагментов, которые были использованы в дальнейшей работе. В результате были получены электрофореграммы продуктов амплификации (рис. 5).

На 6 электрофореграммах было выявлено 136 фрагментов размером от 350 до 2 500 пар нуклеотидов, из которых 125 были полиморфными – выявляли различия между образцами. Число фрагментов, амплифицируемых одним

праймером, варьировало от 19 (17898А) до 26 (НВ-10) и в среднем в пересчете на праймер составило 23 (табл. 2).

Уровень полиморфизма, выявляемого отдельно взятым праймером, варьировал от 84,6 (при амплификации с праймером НВ-10) до 96 % (с праймером UBC-857) и в среднем составил 90,5 %.

В данном эксперименте, как и в случае с электрофорезом белков, поведение некоторых ISSR-компонентов не соответствовало строго доминантному типу наследования. Всего было обнаружено 3 ампликона, присутствующих у некоторых гибридных генотипов, но отсутствующих у обоих родителей (по одному у праймеров 17898В, М-1 и UBC-857), и три ампликона, присутствующих у родителей, но отсутствующих у некоторых гибридов (один у праймера М-1 и два у UBC-857). Даже если полностью исключить из анализа эти три мар-

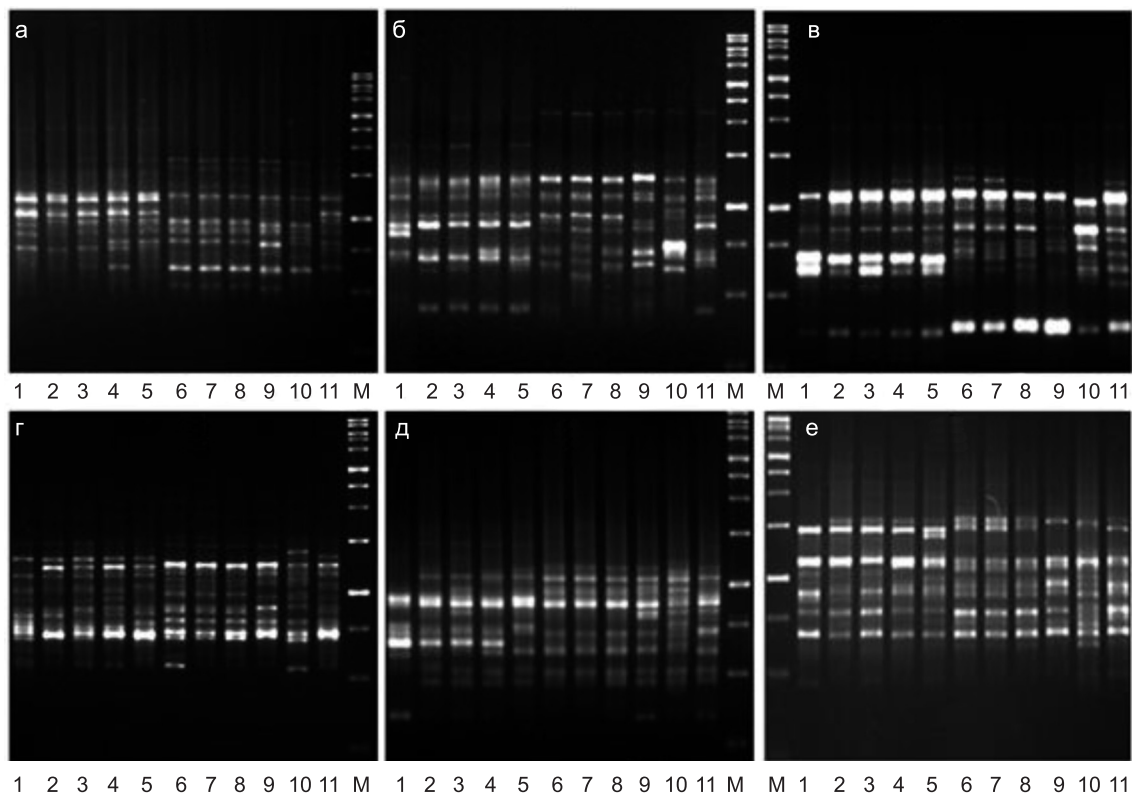


Рис. 5. Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК (метод ISSR-PCR) гибридных семян F_1 (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*) (треки 2–5) в сравнении с родительскими формами *S. sibirica* (трек 1) и *S. pozdnjakovii* (трек 11) и формами *C. integerrimus* (треки 6–8), *C. melanocarpus* (трек 9), *C. lucidus* (трек 10).

Трек М – ДНК-маркер 1kb (250–10000 bp). а – праймер 17898А; б – 17898В; в – 17899В; г – НВ-10; д – UBC-857; е – М-1.

Таблица 2

Характеристика праймеров, использованных для изучения ДНК-полиморфизма образцов *Sorbus*, *Cotoneaster*, *Sorbocotoneaster*

Нуклеотидная последовательность 5'–3'	Наименование праймера	Ta (°C)	Число амплифицируемых фрагментов	Уровень полиморфизма, %	Размер фрагментов ДНК, п.н.
(CA) ₆ AC	17898A	42	19 (17)	89,5	500–2500
(CA) ₆ GT	17898B	42	20 (18)	90,0	450–2250
(CA) ₆ GG	17899B	41	22 (21)	95,5	375–2000
(GA) ₆ CC	HB-10	44	26 (24)	84,6	500–2250
(AC) ₈ CG	M-1	47	24 (21)	87,5	450–2500
(AC) ₈ YG	UBC-857	55	25 (24)	96,0	350–1600

кера, то топология дерева и дистанции между образцами практически не изменяются.

Для ISSR-анализа мы взяли меньшее число гибридных образцов, но увеличили число представителей *Cotoneaster*. Предполагалось, что хотя бы один из имеющихся в нашей коллекции биотипов кизильника может оказаться достаточно близок к рябинокизильнику. Тогда этот образец можно было выбрать в качестве одного из родителей для попытки искусственного ресинтеза рябинокизильника. Однако на полученной консенсусной NJ-дендрограмме (рис. 6) все представители *Cotoneaster* оказались в отдельной ветви почти на одинаковом расстоянии от рябинокизильника, который вместе с *S. sibirica* и гибридами выделился в другую ветвь. Все искусственно полученные

гибриды F₁ (*S. sibirica* × *S. pozdnjakovii*) заняли промежуточное между родительскими видами положение, что в очередной раз подтверждает гибридное происхождение их геномов.

В заключение следует отметить, что возникновение и устойчивое воспроизведение в природе таких гибридов, как *Sorbocotoneaster*, в очередной раз подтверждают значительную роль симпатрического пути образования новых таксонов в подсемействе яблоневых. Возникнув в результате комбинации двух существенно различающихся морфологических форм, полиплоидный геном *Sorbocotoneaster* оказался способен к апомиктичному воспроизведению, что позволяет ему сохранять свой новый морфологический тип. В то же время, формируя фертильную пыльцу, *Sorbocotoneaster* не утра-

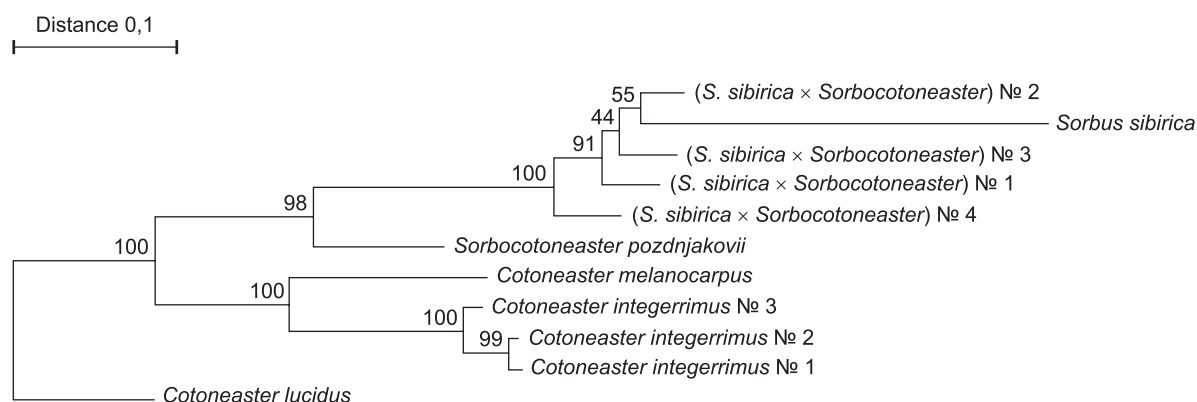


Рис. 6. Консенсусная дендрограмма, построенная методом neighbor-joining (NJ) на основе данных по ISSR-PCR спектрам *S. sibirica*, *S. pozdnjakovii*, *C. melanocarpus*, *C. integerrimus*, *C. lucidus*, F₁ (*S. sibirica* × *Sorbocotoneaster pozdnjakovii*).

Шкала сверху – генетические расстояния (по: М. Nei, W.-Li, 1979). Цифры над узлами показывают уровень статистической поддержки ветвей (bootstrap).

тил возможности скрещиваться по крайней мере с одним из исходных видов – *S. sibirica*, что способствует рекомбинации и переносу генов между значительно различающимися по адаптивному потенциалу и морфологии таксонами.

В отличие от рябинокизильника все другие известные спонтанные или искусственные межродовые гибриды с участием *Sorbus* возникли в результате гибридизации со слабовзимостойкими формами и практически непригодны для выращивания в условиях Сибири. *Sorbocotoneaster* в этом смысле уникален, поскольку возник в результате гибридизации полностью зимостойких в наших условиях видов.

Таким образом, использование кизильника открывает широкие возможности в селекции рябины в Сибири, поскольку представители этого рода являются потенциальными донорами необходимых признаков, источники которых очень ограничены или отсутствуют, а имеющиеся – слабовзимостойки в наших условиях.

Показанная в настоящем исследовании возможность использования рябинокизильника в селекции рябины в перспективе позволит не только получать устойчивые в Сибири сорта рябины с комбинацией ценных признаков, но и благодаря его более широкому вовлечению в интродукционный процесс будет способствовать сохранению и более детальному изучению этого редкого и находящегося под угрозой исчезновения рода. Использование молекулярно-генетических методов позволит сократить трудоемкость этого процесса и в короткие сроки получать достоверную информацию для контроля этапов интродукционных исследований.

ВЫВОДЫ

Методы электрофореза запасных белков семядолей (SDS PAAG) и межмикросателлитных последовательностей ДНК (ISSR) являются эффективными инструментами для идентификации и селекции гибридных генотипов при гибридизации *Sorbus sibirica* Hedl. и *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark.

Полученные результаты по распределению компонентов запасных белков семядолей и межмикросателлитных последовательностей ДНК подтверждают данные о происхождении

рябинокизильника Позднякова в результате гибридизации рябины и кизильника.

При гибридизации рябинокизильника с рябиной сибирской наблюдается рекомбинация молекулярно-генетических и морфологических признаков, что свидетельствует о близком родстве их геномов и, следовательно, о перспективности использования рябинокизильника в селекции рябины.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 14-04-01096-а.

ЛИТЕРАТУРА

- Агафонов А.В., Агафонов О.В. SDS-электрофорез белков эндосперма у представителей рода пырейник (*Elymus* L.) с различной геномной структурой // Сиб. биол. журнал. 1992. Вып. 3. С. 7–12.
- Гладкова В.Н. Цитологическое изучение спонтанного гибридогенного рода *Sorbocotoneaster* Pojark // Ботан. журнал. 1967. Т. 52. № 3. С. 981–983.
- Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н. Древесные растения Азиатской России. Новосибирск: Гео, 2012. С. 376–377.
- Красная книга Республики Саха (Якутии). Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. Якутск: НИПК «Сахаполиграфиздат», 2000. С. 176–177.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.
- Осборн Т.Б. Растительные белки. М.; Л.: Биомедгиз, 1935. 220 с.
- Петрова А.Е., Назарова Е.И. Романова А.Ю. Интродукция рябинокизильника Позднякова – эндема Южной Якутии // Ботанические исследования в криолитозоне. Якутск: ЯНЦ СО РАН, 1992. С. 74–80.
- Программа и методика отдаленной гибридизации плодовых и ягодных культур / Под ред. Я.С. Нестерова. Мичуринск: ЦГЛ им. И.В. Мичурина, 1972. 144 с.
- Редкие и исчезающие растения Сибири. Новосибирск: Наука, 1980. 224 с.
- Щербань А.Б. Реорганизация генома растений в ходе аллополиплоидизации // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. № 2. С. 277–285.
- Evans R.C., Campbell C.S. The origin of the apple subfamily (*Maloideae*; *Rosaceae*) is clarified by DNA sequence data from duplicated GBSSI genes // Am. J. Bot. 2002. V. 89. No. 9. P. 1478–1484.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. No. 5259. P. 680–685.
- Liljefors A. Studies on propagation, embryology and pollination in *Sorbus* // Acta Horti Bergiani. 1953. V. 16. P. 277–329.
- Liljefors A. Cytological studies in *Sorbus* // Acta Horti Bergiani. 1955. V. 17. P. 47–113.
- Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic

- variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. No. 10. P. 5269–5273.
- Peer Van de Y., Wachter R.D. TREECON for Windows: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // Comput. Appl. Biosci. 1994. V. 10. P. 569–570.
- Puchooa D.A. simple, rapid and efficient method for the extraction of genomic DNA from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) // Afr. J. April. 2004. V. 3. No. 4. P. 253–255.
- Robertson A., Newton A.C., Ennos R.A. Breeding systems and continuing evolution in the endemic *Sorbus* taxa on Arran // Heredity. 2004. V. 93. P. 487–495.

**APPLICATION OF THE ELECTROPHORESIS OF COTYLEDON PROTEINS
AND ISSR-MARKERS TO THE IDENTIFICATION OF HYBRIDS BETWEEN
SORBUS SIBIRICA HEDL. AND *SORBOCOTONEASTER POZDNJAKOVII* POJARK.**

S.V. Asbaganov, E.V. Kobozeva, A.V. Agafonov

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

Summary

It is shown that cotyledon protein SDS-electrophoresis and inter-simple sequence repeat DNA markers (ISSRs) can be used in identification of hybrid genotypes in *Sorbus sibirica* Hedl. and *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark. hybridization. Recombination of molecular and morphological characters was observed in hybrids, which proves close relationships of the parental genomes and, as a consequence, the potential of utilizing *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* genotypes in breeding of *Sorbus* cultivars. The results confirm that the genus *Sorbocotoneaster* arose as a result of *Sorbus* and *Cotoneaster* hybridization.

Key words: *Sorbocotoneaster*, intergeneric crosses, molecular markers.

УДК 633.11: 581.1.051

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЮМОУСТОЙЧИВОСТИ

© 2014 г. Е.М. Лисицын^{1,2}, О.С. Амунова¹

¹ Государственное научное учреждение Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, Киров, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Вятская государственная сельскохозяйственная академия», Киров, Россия,
e-mail: edaphic@mail.ru

Поступила в редакцию 7 июля 2014 г. Принята к публикации 11 августа 2014 г.

Яровая мягкая пшеница имеет широкий спектр генотипического разнообразия по реакции на стрессовое воздействие ионов алюминия. Среди исследованного набора отсутствуют неустойчивые сорта, среднеустойчивых сортов примерно 63 %, сортов с высокой устойчивостью – 25,5 %. Относительно чувствительных к алюминиевому воздействию сортов было 11,5 %. Независимо от региона происхождения образцы яровой мягкой пшеницы могут иметь разный уровень устойчивости к исследованному стрессовому эдафическому фактору. Изученный набор образцов пшеницы показал значительное генетическое разнообразие в проявлении реакции на стрессор со стороны хлоропластных пигментов. Структурно-функциональная перестройка пигментного аппарата листьев имеет сортоспецифический характер и не имеет тесной связи с уровнем алюмоустойчивости корневых систем. Проведенный кластерный анализ разделил всю совокупность сортов на 5 групп, имеющих разное сочетание параметров длины корней с мощностью их развития как в контроле, так и в присутствии алюминия. Авторы предполагают, что повышение алюмоустойчивости сортов яровой мягкой пшеницы происходит косвенным путем, параллельно с целенаправленной селекцией на повышение уровня устойчивости растений к абиотическим факторам среды выращивания.

Ключевые слова: пшеница, сорт, стресс, кластерный анализ, пигменты.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты агрохимического обследования почв по состоянию на 1 января 2011 г. показывают, что кислые почвы составляют 30,2 млн га, или 35,6 % пашни Российской Федерации (Доклад ..., 2011). Распределение кислых почв по европейской части Нечерноземной зоны России и их динамика подробно описаны нами ранее (Лисицын и др., 2012). Одним из путей решения проблемы использования кислых почв является эдафическая селекция, задача которой – получение генотипов, специфически приспособленных к неблагоприятным почвенным условиям (Баталова, Лисицын, 2002). Критическим параметром успешного создания устойчивых к стрессовым факторам сортов является изначальное гене-

тическое разнообразие растительных популяций по изучаемому показателю. По мнению В.А. Крупнова (2013), основным направлением селекции зерновых культур является устранение у лучших сортов и перспективных линий признаков, лимитирующих урожай и качество зерна. Вероятность успеха в создании нового сорта отбором из обширных гибридных популяций определяется удачным подбором реципиента и донора желательного признака.

С другой стороны, алюмоустойчивость, проявляющаяся на ранних этапах развития, является частью общей неспецифической устойчивости растений. Это предполагает наличие сопряженной устойчивости к действию разных типов стрессоров. Логично предположить, что устойчивость к алюминию может быть повыше-

на в ходе целенаправленной селекции к другим абиотическим стрессорам, имеющим место в зоне выведения сорта.

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является одной из основных продовольственных и фуражных культур мира, под посевами которой занято 216 млн га. Исследование генетического разнообразия сортов пшеницы может дать существенную информацию относительно ее потенциала в селекционных целях (Sofalian *et al.*, 2009). В России основными регионами возделывания яровой пшеницы являются Поволжье, Западная и Восточная Сибирь, Урал. По уровню устойчивости к алюминию пшеница занимает промежуточное положение между слабоустойчивым ячменем и более устойчивыми культурами – овсом и рожью. Тем не менее кислотоустойчивые сорта пшеницы хорошо растут на почвах Красноярского края с pH 4,1–4,3 (Танделов, Ерышова, 2005). Поэтому целью настоящей работы было сравнительное изучение сортов яровой мягкой пшеницы мировой коллекции ВИР по уровню потенциальной алюмоустойчивости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 113 сортов мягкой яровой пшеницы различного эколого-географического происхождения, полученных из мировой коллекции ВИР. В основе оценки уровня алюмоустойчивости – методика, разработанная в НИИСХ Северо-Востока (Лисицын, 2003): в условиях рулонной культуры используют дистиллированную воду в качестве контрольного варианта и водный раствор сульфата алюминия в концентрации 1,5 мМ Al, pH 4,3. По окончании опыта у каждого проростка определяют длину наибольшего корня и оценивают уровень алюмоустойчивости (ИДК – индекс длины корней) как отношение средних длин корней в опыте и контроле. По уровню алюмоустойчивости образцы были условно распределены на следующие группы, согласно работе Navacode с соавт. (2010): устойчивые (ИДК выше 65 %); умеренно устойчивые (ИДК 50–65 %); умеренно чувствительные (ИДК 40–49 %); неустойчивые (ИДК менее 40 %). Параллельно оценивалось влияние стрессора на накопление сухой массы корнями и ростками.

Повторность опытов трехкратная. На основе полученных 6 параметров, характеризующих развитие проростков пшеницы (длина корней, масса корней и ростков в контроле и в опыте), строили дендрограммы распределения сортов (кластерный анализ по методу Варда (Ward's method)) с использованием программы Statistica version 10 (StatSoft).

Оценку состояния фотосинтетического аппарата: содержание пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) в листьях пшеницы, соотношение разных форм пигментов и распределение хлорофиллов между антенными комплексами и реакционными центрами фотосистем осуществляли после проведения фотометрического анализа вытяжек листьев на спектрофотометре UVmini-1240 производства SHIMADZU Corporation (Japan) при длинах волн 470 нм, 644,8 нм, 661,6 нм. Выделение пигментов и расчет их содержания проводили по методике Lichtenthaler и Bushmann (2001). В качестве экстрагента применяли 100 %-й ацетон.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе методом рулонной культуры потенциальной алюмоустойчивости 113 сортов яровой мягкой пшеницы было выяснено, что в группу устойчивых к стрессору могут быть отнесены 29 сортов, умеренно устойчивых – 71 сорт и оставшиеся 13 сортов относятся к группе умеренно чувствительных. Неустойчивых сортов (с ИДК ниже 40 %) не обнаружено.

Сорта с высоким уровнем алюмоустойчивости, как и сорта, умеренно чувствительные к данному типу эдафического стресса, могут происходить как из географически отдаленных местностей, так и из одной местности. Например, сорта из Омской, Самарской, Тюменской областей России, Казахстана и Украины покрывают весь диапазон изменчивости показателя ИДК в исследованной совокупности (соответственно от 47,9 до 66,2; от 46,2 до 67,4; от 48,9 до 68,6; от 47,9 до 65,3 и от 44,8 до 76,6 %). Для примера в табл. 1 приведены значения потенциальной алюмоустойчивости сортов мягкой яровой пшеницы, выведенных в селекционных учреждениях Сибири и европейской части России, значительно различающихся по почвенно-климатическим условиям.

Таким образом, прямой связи между почвенно-климатическими условиями места выведения сорта и уровнем его потенциальной алюмоустойчивости в нашем исследовании выявить не удалось. Даже сорта, выведенные в Кировской области, где кислые дерново-подзолистые почвы с повышенным содержанием подвижного алюминия занимают около 78 % пахотных земель, не обязательно будут иметь высокий уровень устойчивости к стрессу: ИДК сортов Баженка, Вятчанка и Свеча составляют

соответственно 54,1; 59,8 и 53,2 %, т. е. являются только умеренно устойчивыми.

Использование для оценки уровня устойчивости к стрессору только какого-либо одного показателя (в нашем случае ИДК) не может в полной мере отразить общую реакцию растения. Так, например, Hede с соавт. (2002) показали, что один и тот же уровень устойчивости к алюминию могут иметь растения с разной степенью роста корня в контроле. Естественно, растения, которые способны давать более мощные корневые системы в отсутствие стрессора, будут иметь преимущества перед менее мощными растениями, даже имеющими тот же уровень алюмоустойчивости. Недавно запатентован «Способ оценки кислотоустойчивости сельскохозяйственных растений» (2014), при котором для интегральной оценки устойчивости также используются несколько параметров развития растений: масса корней, ростков, целого растения и длина ростков. Как видно, основное отличие этого способа от нашего состоит в измерении длины ростка вместо длины корня. Очевидно, авторы не использовали показатель длины корней из-за особенностей предлагаемой ими методики – при выращивании растений в чашках Петри корни не имеют возможности нормально расти вниз и поэтому их длина перестает определяться действием только стрессора.

Поэтому для интегральной оценки устойчивости к алюминию нами был принят во внимание характер развития целого растения в отсутствие и при наличии стрессового воздействия, а для кластерного анализа были использованы показатели длины корня и накопления сухой массы корнями и ростками растений. В результате проведенного анализа весь набор изученных сортов разделился на 5 кластеров (рис.) по линии linkage distance = 10.

В первый кластер, имеющий наибольший средний показатель ИДК (67,1 %), вошло всего 8 сортов. Самой обширной группой является второй кластер, состоящий из 46 сортов различного эколого-географического происхождения.

Третий кластер на 65 % представлен сортами сибирской селекции (17 сортов из 26). Более половины (8 из 14) пятого кластера также составляют сибирские сорта мягкой яровой пшеницы. Четвертый кластер (19 сортов) является самым «пестрым» по географическому

Таблица 1
Потенциальная алюмоустойчивость
сортов яровой мягкой пшеницы

Сорт	Регион	ИДК, %
Сорта сибирской селекции		
Тюменская 27	Тюменская область	48,9
Тюменская 26		54,5
Тюменская 28		73,4
Бирюса	Красноярский край	50,0
Саяногорская		53,2
Солянская		60,5
Лавруша	Омская область	47,1
Омская 39		54,3
Серебристая		66,2
Линия 3672h	Иркутская область	53,5
Линия 3691h		61,4
Линия 2		67,1
Сударушка	Новосибирская область	46,5
Соановская 5		54,7
Легенда		69,9
Дарница	Кемеровская область	46,7
Мария 1		67,4
Сорта европейской селекции		
Эстивум 155	Самарская область	49,4
Лютесценс 101		63,6
Лютесценс 30		78,8
Маргарита	Ульяновская область	56,4
Симбирцит		62,9
Спурт	Татарстан	59,1
Тимер		64,7
Закамская		68,8
Челяба золотистая	Челябинская область	53,7
Челяба степная		61,7

Дендрограмма для 13 сортов. Метод Варда.
Евклидово расстояние

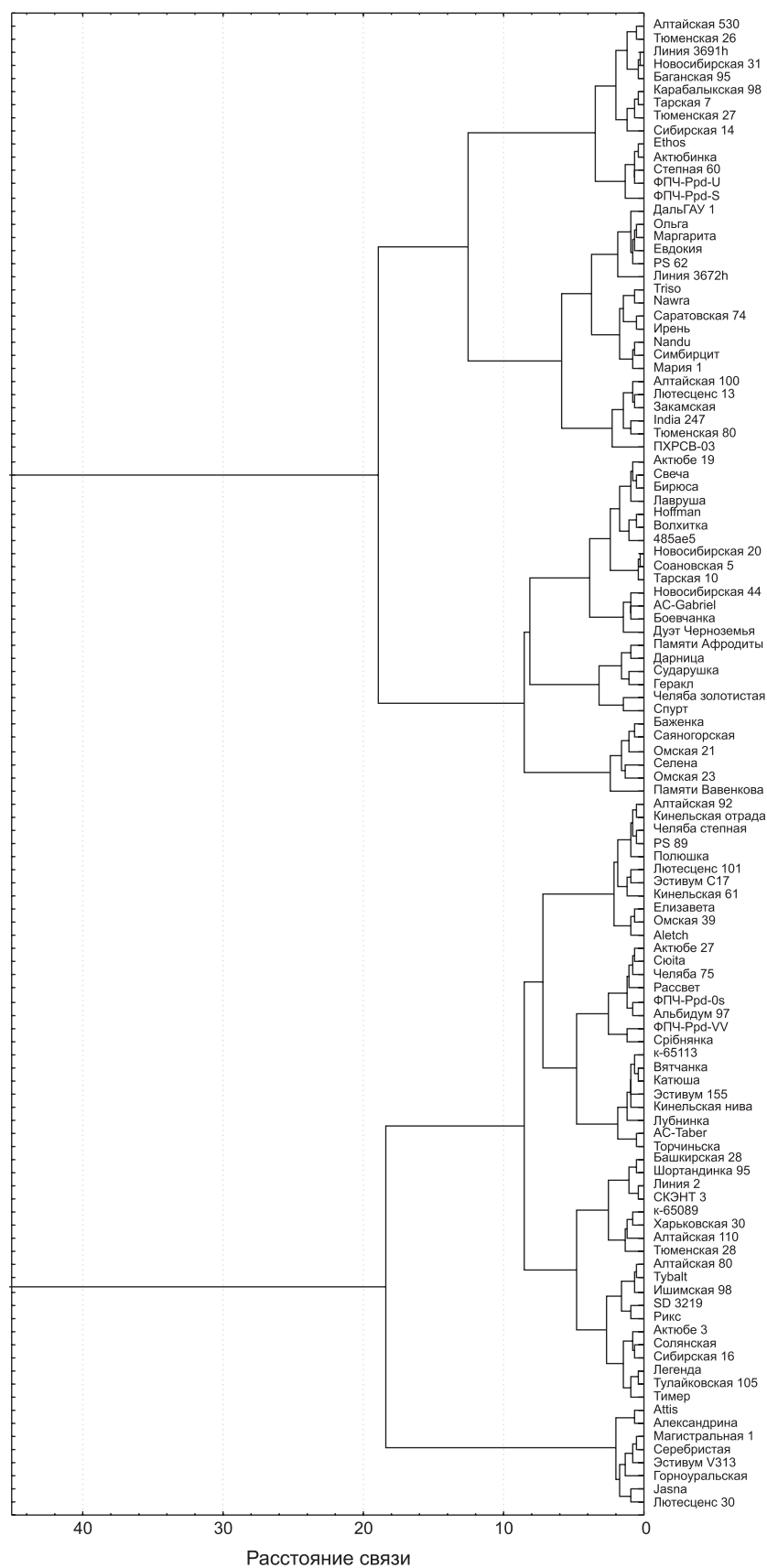


Рис. Дендрограмма распределения 113 образцов яровой мягкой пшеницы по алюмоустойчивости.

происхождению сортов. Усредненные данные по параметрам роста растений пшеницы каждого из кластеров и в среднем по выборке из 113 сортов приведены в табл. 2.

Данные табл. 2 показывают, во-первых, что стресс в наибольшей степени проявился на таком параметре роста, как длина корней, а в наименьшей – на массе ростков; во-вторых, сорта, попавшие в первый кластер, хотя и показывают наименьшую реакцию на стрессор (ИДК 67,1 %), но при этом имеют наименьшую силу роста корня. Сорта четвертого кластера чуть менее устойчивы (ИДК 62,6 %), но при этом абсолютные показатели роста корней (длина и масса) как в контроле, так и в опыте говорят об их преимуществах по сравнению с остальными сортами. Сорта третьего кластера имеют наибольшие абсолютные показатели развития в контроле, но при этом депрессия роста корней под действием ионов алюминия составляет 45 %.

В первый и четвертый кластеры выделились только устойчивые и умеренно устойчивые сорта, в пятый кластер не попал ни один устойчивый сорт, а во втором и третьем кластерах есть сорта всех трех групп устойчивости, хотя и преобладают умеренно устойчивые образцы (60 и 70 % выборки соответственно). Коэффициент корреляции между уровнем устойчивости и номером кластера равен 0,248, что говорит об относительной независимости уровня алюмоустойчивости, определенной по ИДК, и ин-

тегральным уровнем устойчивости с учетом 6 суммарных параметров развития растений.

Для оценки различия в развитии надземных органов растений нами были рассмотрены особенности развития листового аппарата сортов пшеницы, контрастных по потенциальной алюмоустойчивости: устойчивых Эстивум V313 и Легенда (1-й кластер); умеренно чувствительных Эстивум 155 (2-й кластер) и Сибирская 14 (5-й кластер). Результаты показали, чем выше у сорта уровень ИДК (т. е. устойчивость корневых систем на начальных стадиях развития), тем в большей степени он изменял рост надземных органов. Так, один из устойчивых сортов (Легенда, ИДК = 67 %) на стадии выхода в трубку имел в опыте листья чуть короче (на 9 %), чуть уже (на 14 %), чем в контроле, что привело к снижению площади листа на 20 %. Однако количество листьев достоверно больше, что делает отличие в общей площади листьев растения статистически незначимым. К следующей стадии роста (колошение) длина листьев уже не отличалась от контроля, ширина листьев также несколько увеличилась и площадь листа в опыте меньше контроля уже всего на 14 % и остается такой до цветения.

Сорт Эстивум V313 также имел высокий уровень ИДК (68 %) и также показал изменение параметров роста листьев под влиянием стрессора, но по сравнению с сортом Легенда основное отличие от контрольного варианта связано с длиной листа: под влиянием алю-

Таблица 2

Средние ростовые параметры сортов яровой мягкой пшеницы, принадлежащих разным кластерам в пересчете на одно растение

Кластер	Длина корня, см	Масса корня, мг	Масса ростка, мг	ИДК, %
1	6,77 ± 0,13	2,78 ± 0,09	3,34 ± 0,16	67,1
	4,54 ± 0,14	2,49 ± 0,07	3,36 ± 0,09	
2	8,05 ± 0,08	3,13 ± 0,05	4,66 ± 0,06	62,0
	4,99 ± 0,08	2,61 ± 0,05	4,60 ± 0,07	
3	9,63 ± 0,13	3,95 ± 0,09	6,34 ± 0,12	54,7
	5,27 ± 0,13	3,09 ± 0,06	6,26 ± 0,14	
4	9,24 ± 0,09	3,92 ± 0,08	5,16 ± 0,10	62,6
	5,78 ± 0,12	3,31 ± 0,08	5,02 ± 0,10	
5	8,83 ± 0,12	3,38 ± 0,08	5,54 ± 0,07	53,9
	4,76 ± 0,07	2,52 ± 0,04	5,20 ± 0,09	

Примечание. Верхняя строка – контроль, нижняя строка – 1,5 мМ Al.

миния длина листа достоверно увеличилась (на стадии трубкования – 123 %, а на стадии цветения – 114 %), повышая среднюю площадь листа (на 25...30 %). Но при этом общая площадь листьев на растении не отличалась от контроля, видимо, из-за недостоверного, но снижения числа листьев.

Оба умеренно чувствительных сорта (Сибирская 14 имеет ИДК 47 %, Эстивум 155 – 49 %) практически не имели отличий в развитии листового аппарата. Объяснить это явление можно тем, что в начале адаптационного периода эти сорта перераспределяют фотоассимиляты в сторону поддержания развития листовой части растений, соответственно, рост корней резко тормозится.

Что касается устойчивых сортов, то наблюдаются две различные стратегии приспособления. Сорт Легенда адаптируется к стрессовому воздействию, снижая общий уровень метаболизма. При этом снижение роста корневых систем и листового аппарата примерно равно 20 %. Сорт Эстивум V313 показывает пропорциональное перераспределение биомассы – на сколько процентов снижается рост корней (20 %),

на столько же усиливается нарастание листовой поверхности (25...30 %).

Сорт Сибирская 14 на стадии трубкования, имея одинаковую площадь листовой поверхности как в опыте, так и в контроле, тем не менее, под действием стрессора достоверно снижал содержание обеих форм хлорофилла и долю хлорофилла *a* в светособирающих комплексах хлоропластов. В дальнейшем содержание хлорофиллов начинает повышаться: к стадии колошения содержание хлорофилла *a* в листьях стрессовых растений выравнилось с контрольным вариантом, а к стадии цветения превысило контрольные значения. В это время содержание хлорофилла *b* вышло на уровень контроля (табл. 3).

Сорт Эстивум 155, наоборот, постепенно снизил содержание хлорофиллов в листьях, к стадии цветения их содержание составило 98–83 % от контрольных величин. Сорт Легенда на всех изученных стадиях имел повышенное содержание как хлорофиллов (103–106 % от контроля), так и каротиноидов (105–110 %). Растения сорта Эстивум V313 в условиях стрессового воздействия алюминия по содержанию

Таблица 3

Относительное содержание пигментов в листьях сортов пшеницы при воздействии ионов алюминия (% от контрольного варианта)

Сорт	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Доля хлорофилла <i>a</i> в ССК
Трубкование				
Сибирская 14	91,00*	81,77*	95,37	93,13*
Эстивум 155	103,47*	100,41	101,13	98,10
Легенда	106,65*	109,50	102,46	101,77
Эстивум V313	100,61	99,52	96,78	99,14
Колошение				
Сибирская 14	98,38	92,85*	101,78	96,69*
Эстивум 155	99,42	88,66*	106,31*	93,00*
Легенда	105,73*	103,76*	105,09	98,92
Эстивум V313	98,64	99,46	90,29*	100,57
Цветение				
Сибирская 14	107,04*	95,33	116,34*	93,30
Эстивум 155	96,19	87,16*	108,03	93,37*
Легенда	106,62*	101,27	110,91*	97,00
Эстивум V313	94,17	87,13	101,93	93,64

Примечание. * Отличие от контроля статистически значимо при $p < 0,05$.

пигментов и доли хлорофилла, а в светособирающих комплексах фотосистем на всех стадиях не отличались от контроля.

Таким образом, под действием алюминия устойчивые сорта могут более качественно использовать энергию солнечного света для синтеза ассимилятов и их использования для построения растительного организма. В то же время можно видеть значительные различия в развитии надземных органов растений сортов яровой мягкой пшеницы, принадлежащих разным кластерам.

В ходе анализа полученных данных выяснено, что сорта, имеющие в родословной одного и того же родителя, попадали в достаточно отдаленные кластеры. Так, например, сорта Тюменская 80 (4-й кластер) и СКЭНТ 3 (2-й кластер) в качестве одного из родителей имеют сорт Саратовская 29, а сорт Баганская 95 (5-й кластер) – это результат индивидуального отбора из указанного сорта. Другие пары родственных сортов, попавших в разные кластеры: Баженка (3-й кластер) и Ирень (4-й кластер) (общий родитель – сорт Иргина); Баженка и Башкирская 28 (2-й кластер) (общий родитель – сорт Приокская); Мария 1 (4-й кластер) и Дарница (3-й кластер) (общий родитель – сорт Лютесценс 105); Мария 1 и Полюшко (2-й кластер) (общий родитель – сорт Новосибирская 22); Челябинка 75 (2-й кластер) и Серебристая (1-й кластер) (общий родитель – сорт ОмсСХИ-6); Памяти Афродиты (3-й кластер) и Александрина (1-й кластер) (общий родитель – сорт Кантегирская 89). Особенно надо отметить значительное расхождение по параметрам роста растений сортов Алтайская 110 (2-й кластер) и Алтайская 530 (5-й кластер), являющихся результатом отбора из одной комбинации скрещивания ((Лютесценс 281 × к-54975) × Лютесценс 281). То есть сорта Саратовская 29, Иргина, Приокская, Лютесценс 105, Новосибирская 22, ОмсСХИ-6 и Кантегирская 89, скорее всего, не будут являться донорами признака алюмоустойчивости.

Только две пары родственных сортов практически не отличались друг от друга по интегральной оценке устойчивости к алюминию (принадлежали одному кластеру) – это сорта Свеча и Боевчанка (3-й кластер, общий родитель – сорт Bastian) и сорта Кинельская нива и Кинельская отрада (2-й кластер), родственные

через сорт Тулайковская 1. Поскольку сорта третьего кластера показали наибольший уровень интегральной алюмоустойчивости, можно предположить, что сорт Тулайковская 1 несет в себе гены повышенной алюмоустойчивости.

Место выведения сорта не оказало систематического влияния на интегральную характеристику алюмоустойчивости. Различные сорта одного географического происхождения обнаруживаются в разных кластерах: например, сорта новосибирской селекции могут быть обнаружены в первом (Александрина), втором (Легенда, Лубнинка), третьем (Сударушка, Памяти Вавенкова), четвертом (Ольга) и пятом (Баганская 95, Сибирская 14) кластерах. То же можно сказать о сортах саратовской селекции: Лютесценс 30 и Эстивум V313 обнаружены в первом кластере, сорта Тулайковская 105, Кинельская нива и Кинельская отрада – во втором, сорт 485ae5 – в третьем, Лютесценс 13 – в четвертом. Изученные сорта казахстанской селекции распределились по трем кластерам – второму (Шортандинская 95, Актюбе 3, Актюбе 27), третьему (Актюбе 19) и пятому (Степная 60 и Актюбинка). Аналогичные заключения можно сделать по сортам, выведенным в Алтайском крае, Татарстане, Тюменской области.

Азиатская часть России, в частности Сибирь, отличается в рамках обсуждаемого вопроса от европейской части тем, что кислые почвы Сибири практически не содержат подвижного алюминия. Даже при pH 4,4 на дерново-подзолистых почвах Красноярского края содержание подвижного алюминия достигает величины только 0,079 мг-экв/100 г (Танделов, 2012). Хотя сибирские почвы содержат относительно большее количество органического вещества, чем почвы европейской Нечерноземной зоны, данные, полученные, например, Ganapça с соавт. (2007), указывают на то, что для культивируемых зерновых культур уровень алюмоустойчивости не коррелирует с содержанием органического вещества. Известно, однако, что растения адаптируются к кислотному стрессу и токсичности алюминия посредством одних и тех же механизмов (Sawaki *et al.*, 2009). Как указывают Yang с соавт. (2005), алюмоустойчивость подразумевает устойчивость к низкой pH, поскольку токсичность алюминия проявляется только при величинах pH ниже 5,0. Авторы

считают, что все алюмоустойчивые генотипы являются одновременно и кислотоустойчивыми, но далеко не все кислотоустойчивые генотипы будут устойчивы к действию алюминия. Фактом, косвенно подтверждающим возможность создания алюмоустойчивых генотипов в условиях отсутствия стрессового агента, могут служить наблюдаемые при селекции *in vitro* случаи получения кислото- и алюмоустойчивых регенерантов в контрольных вариантах (Иванов, 2001).

Известно, что ответ на биотический стресс чаще всего определяется простыми генными локусами, а ответ на воздействие абиотического стрессора имеет комплексную генетическую основу. Кроме того, многие первичные стрессоры, такие как засуха, засоление, холод, жара, химическое загрязнение и т. д., часто происходят одновременно и приводят к проявлению действия вторичных стрессоров (Kosakivska, 2008).

Даже если учесть, что в любом селекцентре выводят сорта, наиболее адаптированные к местным условиям (в том числе почвенным), все-таки, как нам представляется на основании полученных данных, ведущую роль в создании алюмоустойчивых сортов будет играть генотип сортов, взятых в скрещивания, а не наличие на территории селекцентра кислых (алюмокислых) почв.

Необходимо отметить тот факт, что исследованные нами сорта не являлись итогом целенаправленной селекции на устойчивость к кислым почвам или к алюминию. Многие из них приспособлены к абиотическим стрессам региона выведения, в частности к засухе, часто случающейся и в Сибири (Половинкина, Клименко, 2013), и в Поволжье (Глуховцев, 2012), или неадекватности содержания элементов минерального питания (Асхадуллин Д.Ф., Асхадуллин Д.Ф., 2012). Поскольку реакция растений на разные типы абиотических стрессоров в первые недели воздействия определяется механизмами неспецифической устойчивости (Шакирова, 2001), то повышение устойчивости селекционных образцов и сортов к любому из подобных стрессов может параллельно приводить и к усилению признака кислото-, алюмоустойчивости. Так, засухоустойчивые сорта пшениц отличаются большим числом корней и их суммарной массой, что позволяет им лучше противостоять засухе (Давыдова, 2011). В на-

шем исследовании коэффициенты корреляции между длиной и сухой массой корней были значимы при $p < 0,01$ и составили для сибирских и европейских сортов соответственно 0,686 и 0,741 в контроле, 0,654 и 0,652 при действии алюминия, что говорит о тесной связи этих двух параметров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что яровая мягкая пшеница имеет широкий спектр генотипического разнообразия по реакции на стрессовое воздействие ионов алюминия. Выяснено, что независимо от региона происхождения образцы яровой мягкой пшеницы могут иметь разный уровень устойчивости к этому стрессовому эдафическому фактору. Среди изученного материала не обнаружено сортов, неустойчивых к действию стрессора. Селекция на устойчивость к какому-либо абиотическому стрессору может параллельно повышать уровень устойчивости растений к алюминию.

ЛИТЕРАТУРА

- Асхадуллин Д.-л.Ф., Асхадуллин Д.-р.Ф. Фоны для отбора в селекции озимой пшеницы // Развитие научного наследия Н.И. Вавилова в современных селекционных исследованиях: Матер. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Казань: Центр инновационных технологий, 2012. С. 54–59.
- Баталова Г.А., Лисицын Е.М. О селекции овса на устойчивость к эдафическому стрессу // Селекция и семеноводство. 2002. № 2. С. 17–19.
- Глуховцев В.В. Особенности адаптивной селекции зерновых культур в Среднем Поволжье в свете учения Н.И. Вавилова // Развитие научного наследия Н.И. Вавилова в современных селекционных исследованиях: Матер. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Казань: Центр инновационных технологий, 2012. С. 29–37.
- Давыдова Н.В. Селекция яровой пшеницы на урожайность и качество зерна в условиях центра нечерноземной зоны Российской Федерации: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Немчиновка, 2011. 54 с.
- Доклад о состоянии и использовании земель сельскохозяйственного назначения. М.: ФБГНУ «Росинфоагро-тех», 2011. 148 с.
- Иванов М.В. Биотехнологические основы создания исходного материала ярового ячменя. СПб.-Пушкин: Изд-во ГНЦ ВИР, 2001. 205 с.
- Крупнов В.А. Генетическая сложность и контекст-специфичность признаков урожая пшеницы в засушливых ус-

- ловиях // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. № 3. С. 524–534.
- Лисицын Е.М. Методика лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур // Докл. РАСХН. 2003. № 3. С. 5–7.
- Лисицын Е.М., Баталова Г.А., Щенникова И.Н. Динамика посевных площадей и продуктивности ячменя и овса в различных регионах Европейской России, имеющих кислые дерново-подзолистые почвы // Создание сортов овса и ячменя для кислых почв. Теория и практика. Palmarium Acad. Publ., Saarbrücken, Germany, 2012. С. 11–28.
- Половинкина С.В., Клименко Н.И. Эмбриогенез растений мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в условиях Сибири. Иркутск: Изд-во ИрГСХА, 2013. 136 с.
- Способ оценки кислотоустойчивости сельскохозяйственных растений: Пат. RU 2505958. № 2011149832/10; Заяв. 07.12.2011, Опубл. 10.02.2014. Бюл. № 4. 7 с.
- Танделов Ю.П. Плодородие кислых почв земледельческой территории Красноярского края. Красноярск, 2012. 161 с.
- Танделов Ю.П., Ерышова О.В. Отношение сортов сельскохозяйственных культур к почвенной кислотности // Агрохим. вестник. 2005. № 4. С. 30–32.
- Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
- Ganança J.F.T., Abreu I., Sousa N.F., Paz R.F., Caldeira P., dos Santos T.M.M., Costa G., Slaski J.J., Pinheiro de Carvalho M.Â.A. Soil conditions and evolution of aluminium resistance among cultivated and wild plant species on the Island of Madeira // Plant Soil Environ. 2007. V. 53. No. 6. P. 239–246.
- Hede A.R., Skovmand B., Ribaut J.-M., González-de-León D., Stølen O. Evaluation of aluminium tolerance in a spring rye collection by hydroponic screening // Plant Breeding. 2002. V. 121. P. 241–248.
- Kosakivska I.V. Biomarkers of plants with different types of ecological strategies // Gen. Appl. Plant Physiol. 2008. Spec. Iss. V. 34 (1/2). P. 113–126.
- Lichtenthaler H.K., Bushmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // Curr. Prot. Food Analyt. Chem. 2001. F4.3.1–F4.3.8.
- Navacode S., Weidner A., Varshney R.K., Lohwasser U., Scholz U., Roder M.S., Börner A. A genetic analysis of aluminium tolerance in cereals // Agric. Conspec. Sci. 2010. V. 75. No. 4. P. 191–196.
- Sawaki Y., Iuchi S., Kobayashi Y., Kobayashi Y., Ikka T. *et al.* STOP1 regulates multiple genes that protect Arabidopsis from proton and aluminum toxicities // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 281–294.
- Sofalian O., Chaparzadeh N., Dolati M. Genetic diversity in spring wheat landraces from northwest of Iran assessed by ISSR markers // Not. Bot. Hort. Agrobot. 2009. No. 37. P. 252–256.
- Yang J.L., Zheng S.J., He Y.F., Matsumoto H. Aluminium resistance requires resistance to acid stress: a case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. No. 414. P. 1197–1203.

GENETIC VARIABILITY OF SPRING COMMON WHEAT VARIETIES IN ALUMINUM TOLERANCE

E.M. Lisitsyn^{1,2}, O.S. Amunova¹

¹ Rudnitsky North-East Agricultural Research Institute, Kirov, Russia;

² Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russia,

e-mail: edaphic@mail.ru

Summary

Spring common wheat varieties display broad genotypic diversity in response to the stress impact of aluminum ions. The investigated set of varieties contained no sensitive ones. Moderately tolerant varieties constituted about 63 %, and highly tolerant, about 25,5 %. The remaining 11,5 % of varieties were moderately sensitive to aluminum treatment. Accessions of spring common wheat have different levels of aluminum tolerance irrespective of sampling locality. The set of wheat varieties showed a significant genetic diversity in the manifestation of the response of chloroplast pigments to the stressor. The structure-functional rearrangement of the leaf pigment apparatus was variety-specific. It showed no strong relation to the level of aluminum tolerance in the root systems. Cluster analysis divided the entire set of varieties into 5 groups with different combinations of root length and plant vigor both in the control and in the presence of aluminum. The authors suggest that the increase in aluminum tolerance in spring common wheat varieties occurs indirectly alongside the breeding aimed at increasing plant resistance to abiotic environmental factors.

Key words: wheat, variety, stress, cluster analysis, pigments.

УДК 631.523/527: 633.111

СОПРЯЖЕННОСТЬ АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПОЛЕГАНИЮ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

© 2014 В.Г. Захаров¹, В.В. Сюков², О.Д. Яковлева¹¹ ГНУ Ульяновский НИИСХ, пос. Тимирязевский, Ульяновская область, Россия;² ГНУ Самарский НИИСХ, пос. Безенчук, Самарская область, Россия,
e-mail: vsyukov@mail.ru

Поступила в редакцию 17 июля 2014 г. Принята к публикации 30 июля 2014 г.

Работа посвящена изучению сопряженной изменчивости по устойчивости к полеганию и анатомо-морфологическим признакам стебля у 17 сортов яровой мягкой пшеницы. Методами факторного, путевого и многомерного регрессионного анализа выявлено, что достоверные прямые и косвенные вклады в признак устойчивости растений к полеганию вносят длина второго, третьего нижних междоузлий, сумма их длины и прочность соломины на излом в районе нижних междоузлий. Показано, что отбор на устойчивость к полеганию у яровой мягкой пшеницы возможно вести в ранних поколениях по длине нижних междоузлий.

Ключевые слова: яровая пшеница, полегание, анатомо-морфологические признаки, корреляция, регрессия, главная компонента, путевой анализ.

ВВЕДЕНИЕ

Полегание зерновых культур, в том числе яровой пшеницы, происходит вследствие влияния погодно-климатических условий – избытка осадков и сильного ветра. Оно приводит к значительному снижению продуктивности растений. Раннее полегание вызывает потерю урожая на 29,8–30,9 %, а полегание в фазе ранней восковой спелости – на 9,9–17,6 % (Gotsova, Gotsov, 1965). По данным А.А. Жученко, полегание зерновых культур, в частности озимой и яровой пшеницы, ржи, ячменя и других, приводит к значительным потерям урожая (30–50 % и более), ухудшению его семенных и хозяйственных показателей, создает значительные трудности при уборке (Жученко, 2004). В отдельных случаях потери от полегания могут достигать 90 % (Лелли, 1980).

Различают два типа полегания – прикорневое, связанное с особенностями архитектуры вторичной корневой системы, и стеблевое, определяемое архитектурой надземной части растения

и анатомо-морфологическими особенностями стебля (Atkins, Ennos, 1938; Crook, 1994).

В отношении стеблевого полегания, которое в зоне Среднего Поволжья является наиболее типичным, первое обобщение литературы за 140 лет провел J.M. Atkins (Atkins, Ennos, 1938). Он указал на такие механизмы, как содержание кремнезема в стебле, масса 1 см длины соломины и прочность соломины на разрыв. В отдельные годы отмечалась связь устойчивости к полеганию с длиной нижнего междоузлия. В настоящее время имеется много данных о связи отдельных биохимических (Züher, 1994; Wang *et al.*, 2012) и анатомо-морфологических признаков растения с устойчивостью к полеганию (Дорофеев, 1960; Ильинская-Центилович, Тетерятченко, 1969; Рутц, Пьянов, 1975; Сюков, 1980; Киселев, 1985; Berry *et al.*, 2007). Вместе с тем селекционная практика показывает, что она определяется комплексом взаимосвязанных признаков. Поэтому отбор по одному из них, без учета других, не всегда приводит к получению желаемого результата (Коваль и др., 2010).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2009–2011 гг. нами проведены исследования по изучению характеристик сопряженной изменчивости устойчивости к полеганию, морфо-биометрических и анатомических признаков растений у 17 сортов яровой мягкой пшеницы: Лютесценс 62, Саратовская 36, Волжанка, Кутулукская, Симбирка, Ишеевская, Л-503, Землячка, Экада 6, Симбирцит, Экада 70, Маргарита, Экада 66, Экада 97, Экада 109, Ульяновская 100 и Сурская юбилейная. Факторный анализ совокупности признаков, связанных с устойчивостью к полеганию, провели методом главных компонент (Харман, 1972), который предназначен для совместного анализа взаимосвязанных признаков. Анализ с помощью данного метода позволяет находить нескоррелированные между собой главные компоненты и веса (коэффициенты нагрузки), которые отражают вклад каждой главной компоненты в выраженность признака. Анализ коэффициентов путей Райта осуществляли по С.П. Мартынову (1978). Многофакторный нелинейный регрессионный анализ проводили с использованием компьютерной программы Оренбургского НИИСХ, разработанной под руководством доктора сельскохозяйственных наук А.Г. Крючкова.

Нами было изучено 12 признаков: устойчивость к полеганию, длина 2-го (снизу) междоузлия, длина 3-го междоузлия, сумма длин 2-го и 3-го междоузлий, длина верхнего междоузлия (расстояние от верхнего стеблевого узла до основания колоса), диаметр 2-го междоузлия, диаметр 3-го междоузлия, масса колоса, масса отрезка (10 см длины) соломины, количество сосудисто-проводящих пучков, прочность 2-го междоузлия на излом, высота растения.

Опыты закладывали на экспериментальном участке ГНУ Ульяновский НИИСХ по «Методике государственного сортоиспытания» (1985), в 4-кратной повторности с нормой высева 5,5 млн всхожих зерен на 1 га, селекционной сеялкой СН-10Ц. Предшественником посева являлся сидеральный пар. Учетная площадь делянок составляла 17,8 м². На делянках закладывали пробные площадки общей площадью 1 м². Уборку учетных площадок проводили вручную, выдергивая растения с корневой системой для

проведения анализа структуры урожайности. Степень устойчивости к полеганию оценивали по 9-балльной шкале (Филатенко, Шитова, 1989). Длину междоузлий, высоту растений измеряли при анализе структуры урожайности линейкой, диаметр междоузлий – электронным штангенциркулем. Число сосудисто-проводящих пучков подсчитывали с помощью микроскопа «BIOLAR» на срезах соломины, сделанных в середине второго междоузлия, предварительно окрашенных в слабом растворе йода. Прочность 2-го междоузлия на излом определяли на изготовленном приборе, в котором предусмотрены держатель для соломины и контейнер с крючком для подвешивания груза. Для анализа брали отрезок соломины длиной 2 см, который помещали в держатель прибора, к середине подвешивали с помощью крючка контейнер, нагружали его грузом до момента излома и отмечали массу груза.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно рассчитанная матрица коэффициентов корреляции для проведения компонентного анализа позволила выявить характер связей между устойчивостью к полеганию и изученными признаками. Достоверно отрицательно коррелировали с устойчивостью к полеганию длина 2-го междоузлия ($r = -0,61^{**}$), длина 3-го междоузлия ($r = -0,72^{**}$), сумма длин 2-го и 3-го междоузлий ($r = -0,70^{**}$); достоверно положительно – длина верхнего междоузлия ($r = 0,56^{*}$), диаметр 2-го междоузлия ($r = 0,69^{*}$), диаметр 3-го междоузлия ($r = 0,65^{*}$), масса колоса ($r = 0,61^{*}$), масса 10 см длины соломины ($r = 0,60^{**}$), прочность второго междоузлия на излом ($r = 0,66^{**}$). Связь между количеством сосудисто-проводящих пучков во втором междоузлии и устойчивостью к полеганию оказалась положительной, но недостоверной, при этом наблюдалась положительная связь этого показателя с диаметром второго междоузлия ($r = 0,79^{**}$) и массой колоса ($r = 0,67^{**}$). Между высотой растения и устойчивостью к полеганию связь слабая.

Проведенный корреляционный анализ отразил наличие прямых или обратных связей между отдельными признаками, обуславливающими

устойчивость к полеганию, но не дал представления о вкладе компонентов, что позволяет сделать анализ методом главных компонент.

В результате проведенного факторного анализа было установлено, что изменчивость количественных признаков определяется тремя главными компонентами, которые в совокупности на 81,6 % определили общую дисперсию. При этом первая – на 41,3 %, вторая – на 25,8 %, третья – на 14,5 % (табл. 1).

Первая компонента интерпретирована нами как «устойчивость к полеганию» и связана с биометрическими показателями соломины и ее прочностью на излом. Она включает в себя следующие признаки: длина 2-го междоузлия, длина 3-го междоузлия, сумма длин 2-го и 3-го междоузлий, прочность второго междоузлия на излом. При этом ведущая роль принадлежит признаку «сумма длин 2-го и 3-го междоузлий», который является определяющим в обеспечении более высокой устойчивости к полеганию у изучаемых сортов. Следовательно, можно предположить, что в условиях проведения исследований отбор растений с меньшей длиной нижних междоузлий будет приводить к повышению устойчивости в процессе селекции.

Вторая компонента «продуктивности», связанная с формированием массы колоса в связи с диаметром междоузлий и количеством

сосудистых пучков, включает в себя признаки, способствующие реализации высокой продуктивности колоса. Ведущая роль в этой компоненте отводится признаку «количество сосудистых пучков».

Третья компонента определяет высоту растений и длину верхнего междоузлия. Эта компонента никак не связана с устойчивостью к полеганию.

Для уточнения вклада отдельных признаков, входящих в состав первой главной компоненты, в устойчивость к полеганию использовали метод анализа путевых коэффициентов Райта. Как видно из табл. 2, лишь один параметр из четырех имеет достоверный прямой вклад в формирование результирующего признака «устойчивость к полеганию» – сумма длин 2-го и 3-го нижних междоузлий (переменная 3). Остальные переменные определяют устойчивость к полеганию косвенно, через третий признак.

Наиболее близко эмпирические данные аппроксимируются уравнением множественной регрессии: $Y = 9,068 - 134,356x_1 - 134,716x_2 + 134,359x_3 + 0,0012x_4$ ($r = 0,761$, $D = 62,4$ %, $F = 5,395^{***}$).

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее стабильная взаимосвязь устойчивости к полеганию растений яровой мягкой пшеницы проявляется с дли-

Таблица 1

Результаты факторного анализа признаков, связанных с устойчивостью к полеганию

Признак	Оценка нагрузок на компоненты		
	1	2	3
Устойчивость к полеганию	-0,756	0,228	-0,414
Длина 2-го междоузлия	0,938	-0,083	-0,102
Длина 3-го междоузлия	0,913	-0,205	0,067
Сумма длин 2-го и 3-го междоузлий	0,956	-0,165	0,004
Длина верхнего междоузлия	-0,152	0,051	-0,947
Диаметр 2-го междоузлия	-0,446	0,796	-0,294
Диаметр 3-го междоузлия	-0,563	0,680	-0,265
Масса колоса	-0,491	0,706	-0,079
Количество сосудистых пучков	-0,241	0,860	0,008
Прочность 2-го междоузлия на излом	-0,766	0,183	-0,060
Высота растения	0,044	0,374	-0,680
Масса 10 см длины соломины	-0,578	0,678	-0,165
Дисперсия, %	41,331	25,819	14,497

Таблица 2
Прямые и косвенные вклады
количественных признаков
в показатель «устойчивость к полеганию»

№ признака	1	2	3	4	<i>r</i>
1	<u>0,637</u>	0,101	-1,097	-0,248	-0,607
2	0,543	<u>0,119</u>	-1,142	-0,237	-0,716
3	0,599	0,116	<u>-1,167</u>	-0,250	-0,702
4	-0,424	-0,076	0,783	<u>0,373</u>	0,656
$R_0 = 0,639$					

Примечание. 1 – длина второго нижнего междоузлия; 2 – длина третьего нижнего междоузлия; 3 – длина 2-го и 3-го нижних междоузлий; 4 – прочность соломины на излом; *r* – коэффициент корреляции признака с устойчивостью к полеганию. Подчеркнуты прямые вклады.

ной второго и третьего нижних междоузлий и прочностью соломины на излом. В качестве дополнительного критерия отбора на устойчивость к полеганию на ранних этапах селекции предлагается использовать сумму длин 2-го и 3-го междоузлий, имеющих наибольший вес среди включенных в первую компоненту.

ЛИТЕРАТУРА

- Дорофеев В.Ф. Некоторые данные исследования полегания пшениц // Бюл. ВИР. 1960. Т. 32. Вып. 2. С. 293–302.
- Жученко А.А. Ресурсный потенциал производства зерна в России. М.: ООО «Издательство Агрорус», 2004. 1109 с.
- Ильинская-Центилович М.А., Тетерятченко К.Г. О селекции озимой пшеницы на устойчивость к полеганию // Тр. Харьковского с.-х. ин-та, 1969. Т. 27. С. 44–48.
- Киселев В.А. Оценка устойчивости сортов озимой пшеницы к полеганию по морфологическим признакам стебля // Селекция и семеноводство полевых культур в Среднем Поволжье. Самара, 1985. С. 87–88.
- Коваль С.Ф., Шаманин В.П., Коваль В.С. Стратегия и тактика отбора в селекции растений: Монография. Омск: Изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2010. 228 с.
- Лелли Я. Селекция пшеницы: Теория и практика. М.: Колос, 1980. 384 с.
- Мартынов С.П. Применение путевого и дискриминантного анализов для оценки селекционной значимости компонентов урожая // Генетика количественных признаков сельскохозяйственных растений. М., 1978. С. 52–58.
- Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур / Под общ. ред. М.А. Федина. М., 1985. Вып. 1. 270 с.
- Рутц Р.И., Пьянов В.П. Особенности морфологического строения стебля и устойчивость к полеганию сортов яровой пшеницы интенсивного типа // Биология и агротехника полевых культур: Сб. науч. тр. Ом. с.-х. ин-та им. С.М. Кирова. Омск, 1975. Т. 137. С. 117–120.
- Сюков В.В. Исходный материал для селекции устойчивых к полеганию сортов мягкой пшеницы // За высокую эффективность производства и качества работы: Тез. докл. на V науч.-произв. конф. молодых учен. и спец. сел. хоз-ва Куйбышевской обл. Куйбышев, 1980. С. 87–88.
- Филатенко А.А., Шитова И.П. Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Triticum* L. Л., 1989. 44 с.
- Харман Г. Современный факторный анализ. М.: Статистика, 1972. 486 с.
- Atkins J.M., Ennos A.R. Relation of certain plant characters to strength of straw and lodging in winter wheat // J. Agric. Res. 1938. V. 56. No. 2. P. 99–120.
- Berry P.M., Berry S.T., Spink J.H. Identification of genetic markers for lodging resistance in wheat // Project Report. No. 441. Warwickshire: HGCA, 2008. 14 p.
- Berry P.M., Sylvester-Bradley R., Berry S.T. Ideotype design for lodging-resistant wheat // Euphytica. 2007. V. 154. Iss. 1/2. P. 165–179.
- Crook M.J. Stem and root characteristics associated with lodging resistance in four winter wheat cultivars // J. Agric. Sci. 1994. V. 123. No. 1. P. 167–174.
- Gotsova V., Gotsov P. Influence of lodging on the yield and quality of wheat // Rast. Nauki (Sofia). 1965. No. 2. P. 33–39.
- Wang J., Zhu J., Huang R., Yang Y. Investigation of cell wall composition related to stem lodging resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by FTIR spectroscopy // Plant Signal Behav. 2012. V. 7. No. 7. P. 856–863.
- Züher U. Molecular and morphological aspects of lodging resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.): Diss. ... doctor of natural science. Zürich, 1994. 74 p.

CORRELATION OF MORPHOANATOMICAL TRAITS WITH LODGING RESISTANCE IN SPRING WHEAT IN THE MIDDLE VOLGA REGION

V.G. Zakharov¹, V.V. Syukov², O.D. Yakovleva¹

¹ Ulyanovsk Research Institute of Agriculture, Ulyanovsk oblast, Russia;

² Samara Research Institute of Agriculture, Bezenchuk, Samara oblast, Russia,
e-mail: vsyukov@mail.ru

Summary

The study concerns the variability of dual lodging resistance and morphoanatomical indices of the culm in 17 spring wheat varieties. Factor, path, and multivariate regression analyses indicate that reliable direct and indirect contributions to plant resistance to lodging are made by the lengths of the second and third lower internodes, the sum of their lengths, and the fractural strength of the culm at lower internodes. It is shown that the selection for lodging resistance in spring wheat can be done in early generations on the base of the lengths of lower internodes.

Key words: spring wheat, lodging, morphoanatomical traits, correlation, regression, principal component, path analysis.

УДК 633.19:631. 523:575 (479.242)

НОВЫЕ ОБРАЗЦЫ *TRITICUM COMPACTUM* Host. ИЗ НАХЧЫВАНСКОЙ АВТОНОМНОЙ РЕСПУБЛИКИ

© 2014 г. Х.Н. Рустамов

Институт генетических ресурсов НАНА, Баку, Азербайджан,
e-mail: xanbala.rustamov@yandex.com

Поступила в редакцию 7 марта 2014 г. Принята к публикации 22 августа 2014 г.

Статья посвящена результатам анализа образцов пшеницы компактной (*Triticum compactum* Host.), собранных в результате двух экспедиций, проведенных в Нахчыванской автономной республике (АР) при поддержке Фонда развития науки при Президенте АР. Наряду с другими видами собрано 78 образцов пшеницы компактной, относящихся к группам разновидностей *convar. rigidicompactum*, *convar. inflatum* и *convar. compactum*. Большинство образцов (92,3 %) относилось к разновидностям *var. splendidorigidum*, *var. fetissoyii*, *var. asiaticiciterinum*, *var. erinaceum* и т. д., которые входят в подгруппу *subconvar. rigidicompactum*. Выявлено широкое внутривидовое разнообразие по типу развития, срокам колошения, устойчивости к желтой ржавчине, а также по высоте, архитектонике растений и показателям колоса.

Ключевые слова: пшеница компактная, *Triticum compactum* Host., *convarietas rigidicompactum*, *subconvarietas rigidicompactum*, *convarietas inflatum*, *subconvarietas roshanum*, *convarietas compactum*, генетическое разнообразие, естественная гибридизация.

ВВЕДЕНИЕ

Глобальное изменение климата, бессистемное и нерациональное использование пастбищ, сенокосов и других агроценозов привели к резким изменениям в биогеоценозах и в биосфере в целом. Ареалы редких и эндемичных видов уменьшились, некоторые виды оказались на грани исчезновения или же исчезли. Поэтому сбор, уточнение ареалов распространения и комплексное изучение диких, редких и исчезающих видов и популяций, в том числе аборигенных генотипов, реконструкция их прежних ареалов и сохранение в генбанках являются приоритетной задачей современной биологии.

Предполагается, что по устойчивости к абиотическим и биотическим факторам среды и по хозяйственно значимым признакам у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) внутривидовой генетический потенциал исчерпан. На современном этапе научной селекции широко обсуждается актуальность вовлечения в скрещивания близких родов и видов, в том числе диких и редких го-

лозерных видов пшеницы (Гончаров, Шумный, 2008; Дедкова, 2008; Мальчиков, 2009).

Пшеница компактная, карликовая или ежовка (*Triticum compactum* Host.) – один из таких древних, ныне редких, видов, который в прошлом занимал в Евразии значительные ареалы, а в настоящее время почти не встречается в чистых культурных посевах. Этот гексаплоидный вид с геномом A^uBD генетически близок к пшенице мягкой. Литературные данные и многолетние наблюдения показывают, что редкие виды, в том числе пшеница компактная, перспективны для обогащения генофонда пшеницы мягкой (Культурная флора, 1979). Поэтому при вовлечении в межвидовые скрещивания спонтанных гибридов этого вида можно обогатить генофонд мягкой пшеницы новыми перспективными признаками и генными блоками (Рустамов, 2013).

Считаем, что изучение на разных уровнях (молекулярно-генетический–биогеоценоз) генетического потенциала внутривидового полиморфизма найденных генотипов позволит создать генетические источники и доноры для повыше-

ния урожайности и качества зерна, устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды пшеницы мягкой.

Экологически *T. compactum* является типичной горной пшеницей, которая имеет формы влаголюбивые, с малой требовательностью к теплу в период созревания, устойчивостью к весеннему понижению температуры и малой требовательностью к почвенным и агротехническим условиям. По образу жизни эти формы разделяются на озимые, полуозимые и яровые (поздние и ранние). Судя по анализу археологических материалов из раскопок в Нахчывани, в одном из погребений (III тысячелетие до н. э.) найдены обугленные зерна *T. compactum*. Следы культуры *T. compactum* найдены также в других местах Южного и Северного Кавказа и в европейской части бывшего СССР (Культурная флора, 1979).

Территория Нахчыванской АР расположена между географическими координатами 38°51'–39°47' с. ш., 44°46'–46°10' в. д. (Бабаев, 1999). Контрастные почвенно-климатические условия, высокая естественная радиация, сложная орография и вертикальная зональность способствовали формированию богатого разнообразия растений, в том числе пшениц. Регион стал одним из основных очагов видо- и формообразования растений, в том числе пшеницы (Рустамов, 2013).

Основная цель настоящей работы – сбор, уточнение бывших и поиск новых ареалов тетра- и гексаплоидных видов пшеницы. Кроме того, комплексное исследование биоэкологических особенностей и селекционно значимых признаков, паспортизация и передача новых образцов в Национальный генбанк тоже являются целью нашей работы. Планируется изучение в условиях необеспеченной богары (Гобустанская ЗОС АзНИИ земледелия) устойчивости собранного материала к биотическим и абиотическим факторам среды, агрономических характеристик с целью создания признаков коллекций, генетических источников и доноров высокой продуктивности и качества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При поддержке Научного фонда развития при Президенте Азербайджана в июне–июле

2012 г. в Нахчыванский АР было организовано две экспедиции. Первая экспедиция (20–29 июня 2012 г.) охватила Приаразскую низменность: Садаракский, Шарурский и Бабекский районы. Вторая экспедиция (18–27 июля 2012 г.) проводилась в предгорной зоне: Бабекском, Джульфинском и Шахбузском районах. Наряду с другими видами пшениц собрано 78 образцов пшеницы компактной, относящихся к группам разновидностей *convar. rigidicompactum*, *convar. inflatum* и *convar. compactum*.

С использованием определителей ВИР (Дорофеев и др., 1980) собранный материал из каждой конкретной территории проанализирован, определены виды и ботанические разновидности. Выявлены также не описанные в определителях формы, разновидности. С помощью общеизвестных методов были проведены фенологические наблюдения и оценка устойчивости к болезням (Johnson *et al.*, 1972; Мережко и др., 1999; Мусаев и др., 2008).

Тип развития образцов пшеницы компактной определяли весной, в конце фазы кущения, по форме куста. За основу была взята 9-балльная шкала: 1 – прямостоячий, 3 – полустоячий, 5 – поникающий, 7 – развалистый, 9 – стелющийся (Филатенко, Шитова, 1989). В преобразованном виде использовали шкалу: 1 – яровые (стебли находятся под 90° относительно поверхности почвы); 3 – яровые-озимые (90–75°); 5 – полу-озимые (75–45°); 7 – озимо-яровые (45–25°); 9 – озимые (меньше 25°).

Из различных посевов Бабекского района было собрано 17 образцов, в Шарурском районе – 8 образцов, в Седерекском – 12 образцов, в Джульфинском – 27 образцов, в Шахбузском – 14 образцов. Большинство собранных образцов относились к азиатскому подвиду пшеницы компактной (табл. 1).

Собранный материал *T. compactum* вместе с другими тетра- и гексаплоидными видами посеяли на Гобустанской ЗОС АзНИИ земледелия в условиях необеспеченной богары, при обычных среднеконтинентальных климатических условиях. Погодные условия в 2013 г. резко отличались от среднегодовой нормы. Зима была мягкая, лишь в январе наблюдались кратковременные морозы. Весной (март) была жесткая засуха, но в апреле–мае наблюдались интенсивные осадки и относительно низкая

Таблица 1

Внутривидовой состав новых образцов *T. compactum* Host., собранных в Нахчыванской АР.
Гобустан, 2012–2013 гг.

№	Разновидности	Районы					Всего
		Бабек	Шарур	Садарак	Джульфа	Шахбуз	
<i>T. compactum</i> subconvar. <i>rigidocompactum</i>							
1	<i>v. splendidorigidum</i>	1	—	2	2	1	6
2	<i>v. fetissovii</i>	1	2	4	5	2	14
3	<i>v. asiaticicterinum</i>	1	2	1	4	3	11
4	<i>v. erinaceum</i>	3	—	1	4	2	10
5	<i>v. echinoideum</i>	3	—	2	4	1	10
6	<i>v. kerkianum</i>	1	—	1	2	1	5
7	<i>v. nigrivelutinum</i>	1	1	1	—	—	3
<i>T. compactum</i> subconvar. <i>roshanum</i>							
8	<i>v. roshanum</i>	—	—	—	1	—	1
9	<i>v. echinacinflatum</i>	—	—	—	1	—	1
<i>T. compactum</i> convar. <i>compactum</i>							
10	<i>v. creticum</i>	1	—	—	—	—	1
11	<i>v. icterinum</i>	—	1	—	—	—	1
12	<i>v. griseoicterinum</i>	1	—	—	—	—	1
13	<i>v. echinoides</i>	1	—	—	—	—	1
Всего по районам:		17	8	12	27	14	78

температура – создались оптимальные условия для роста и развития растений пшеницы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Благодаря благоприятным климатическим условиям у изученных образцов высота растений и продуктивная кустистость в целом были высокие. Но относительно холодная и дождливая погода провоцировала эпифитотию грибковых болезней, особенно желтой ржавчины. Данные условия позволили оценить образцы по устойчивости к болезням и полеганию.

Как уже было сказано, в результате двух экспедиций в Приарзской низменности и в предгорьях Нахчыванской АР были собраны преимущественно грубоколосые генотипы (16 разновидностей) азиатской подгруппы (subconvar. *rigidocompactum*) – 72 образца (92,3 %). Они собраны в основном на территории Бабекского, Джульфинского и Шахбузского районов (табл. 1). Входящие в эту группу *var. nigrivelutinum*, *var. pseudofetissovii* представлены тремя

образцами; *var. rubriceps*, *var. pseudorubriceps* – двумя образцами, а также *var. pseudoerinaceum*, *var. flagsbergeri*, *var. sericeum*, *var. surchianum*, *var. cabristanicum*, *var. albiceps* и др. разновидности – только одним образцом, который не представлен в табл. 1.

Преобладали разновидности *var. splendidorigidum*, *var. fetissovii*, *var. erinaceum*, *var. asiaticicterinum*, *var. echinoideum* (табл. 1). Кроме того, как и ожидалось, в Джульфинском районе найдены всего 2 разновидности (*var. roshanum*, *var. echinacinflatum*), относящиеся к инфлятной лигульной подгруппе (convar. *inflatum* subconvar. *roshanum*). В Бабекском районе представители 4 разновидностей – *var. creticum*, *var. icterinum*, *var. griseoicterinum* и *var. echinoides* нежноколо-сой европейской группы convar. *compactum*.

Образцы пшеницы компактной отличались также по типу развития. Среди образцов выделены истинно озимые (18 образцов – 23,1 % из общего количества образцов) и полуозимые (38 образцов – 48,7 %) образцы. Абсолютное большинство из выделенных истинно озимых

(83,3 %) и озимо-яровых (86,8 %) образцов относились к азиатской ригидной подгруппе (var. *splendorigidum*, var. *fetissovii*, var. *asiaticicterinum*, var. *erinaceum* и т. д.).

На большинстве территорий Азербайджана, в том числе в Гобустане, фазы молочной и восковой спелости у пшеницы приходятся на период с высокой температурой и засухой. В считанные дни аттракция прекращается, растения преждевременно высыхают. Поэтому в таких условиях наибольшую ценность имеют генотипы с ранним сроком колошения. Скоропелые сорта в связи с ранним колошением успевают пройти основную часть налива зерна до наступления засухи – уходят от стресса, получая преимущество по урожайности и качеству зерна. В изученном наборе образцов пшеницы компактной были выделены 6 образцов (7,7 %), которые выколосились одновременно или чуть позже (9–11 мая) стандарта – районированного в регионе скороспелого сорта пшеницы мягкой Gobustan. Они происходят из Бабекского, Джульфинского и Шахбузского районов (табл. 2). Почти половина образцов характеризовались относительно ранним колошением (12–16 мая); 18 образцов, или 23,1 %, – очень поздним (21–27 мая) сроком колошения.

Новые образцы пшеницы компактной из Нахчывани оказались разнообразными также по устойчивости к желтой ржавчине. Только 3 образца (3,9 %) были высокоустойчивы – R; 33 образца (42,3 %) среднеустойчивы – MR; 22 образца (28,2 %) среднечувствительны – MS; 5 образцов (6,4 %) чувствительны – S; 15 образ-

цов (19,2 %) высокочувствительны – 40–80S к данному патогену. Не выявлена связь полевой устойчивости к желтой ржавчине и районами сбора образцов – распределение числа образцов, собранных в разных районах, по классам устойчивости достоверно не различалось. Распределение по классам устойчивости было примерно таким же, как и в целом по всем собранным образцам, как указано выше.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что род *Triticum* является факкультативным самоопылителем, и время от времени происходит перекрестное опыление. На некоторых территориях, где во время фазы «колошение–цветение» наблюдается высокая температура, имеет место «вторичное цветение». В результате в смешанных посевах-популяциях появляются естественные гибриды. Нужно отметить, что спонтанные гибриды типа *T. compactum* и других видов собраны только с тех посевов, где 4–5 лет беспрерывно репродуцировались одни и те же семена с примесью различных географически отдаленных форм мягкой пшеницы, а также других видов пшениц. Для адаптации спонтанных гибридов, возникших после перекрестного опыления, и для повышения частоты встречаемости необходимо 4–5 лет пересева посевного материала. Кроме того, эти гибриды должны быть способны конкурировать с пшеницей мягкой.

Нужно отметить, что в посевах-популяциях или в посевах тетра- и гексаплоидных видов

Таблица 2

Морфобиологическая характеристика образцов *T. compactum* Нахчыванской АР с ранним сроком колошения, Гобустан, 2013

№	Происхождение, район	Разновидность	Тип развития, балл	Колошение, дата	Устойчивость к желтой ржавчине
1	Бабекский	v. <i>splendorigidum</i>	5	11.V	R
2	Джульфинский	v. <i>fetissovii</i>	7	09.V	MR
3	Джульфинский	v. <i>pseudofetissovii</i>	7	09.V	MS
4	Джульфинский	v. <i>pseudofetissovii</i>	7	09.V	MS
5	Шахбузский	v. <i>asiaticicterinum</i>	7	11.V	MR
6	Шахбузский	v. <i>asiaticicterinum</i>	5	11.V	MS
7	Шахбузский	v. <i>echinoideum</i>	7	12.V	MR

Примечание. R – высокоустойчивы; MR – среднеустойчивы; MS – среднечувствительны; S – чувствительны.

пшеницы, не изолированных друг от друга, повышается частота появления разнообразных спонтанных гибридов. В последние десятилетия в Нахчыванский АР больших посевов пшеницы твердой и других тетраплоидных видов не обнаружили, что отрицательно повлияло на спектр и частоту встречаемости возникающих естественных гибридов.

Из спонтанных гибридов, собранных нами с опытных полей Тертерской и Гобустанской ЗОС, отобраны и включены в коллекцию отдела 20 образцов *T. compactum*. Среди них также выделены истинно озимые (8 образцов – 40 %) и полуозимые (7 образцов – 35 %) образцы. Они также различались сроками колошения и устойчивостью к желтой ржавчине. Следует отметить, что почти половина образцов пшеницы компактной оказались константными, единообразными по высоте растений, длине и форме колоса. У некоторых образцов наблюдали выщепление новых форм и разновидностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предварительная оценка собранных в Нахчыванской АР образцов *T. compactum* показала наличие широкого внутривидового полиморфизма по типу развития, срокам колошения и устойчивости к желтой ржавчине.

Привлекая пшеницу компактную в межвидовые скрещивания, можно обогатить пшеницу мягкую генными блоками, обуславливающими адаптивность, устойчивость к стрессовым факторам, урожайность и качество зерна.

Кроме того, районированные в настоящее время в Азербайджане сорта пшеницы мягкой и твердой различаются по эколого-географическому происхождению. Большинство этих сортов создано с участием материалов, предоставленных CIMMIT, ICARDA и другими международными организациями. При несоблюдении пространственной изоляции из-за «вторичного цветения» происходит перекрестное опыление, появляются внутри- и межвидовые гибриды, являющиеся основой формообразовательного процесса.

Современные сорта, созданные в различных эколого-географических зонах с привлечением не только мягких пшениц, но и других видов, разнообразны по генотипу. При скрещивании таких отдаленных сортов наблюдается широкий спектр расщепления гибридов, в том числе компактоидов, спельтоидов и т. д.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда развития науки при Президенте Азербайджанской Республики. Грант № EIF-2011-1(3)-82/52/3-М-69.

ЛИТЕРАТУРА

- Бабаев С.Я. География Нахчыванской АР. Баку: Элм, 1999. 298 с. (на азербайдж. языке).
- Гончаров Н.П., Шумный В.К. От сохранения генетических коллекций к созданию национальной системы хранения генофондов растений в вечной мерзлоте // Информ. вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 509–523.
- Дедкова О.С. Сравнительное филогенетическое исследование полиплоидных пшениц *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl., *T. spelta* L. и *T. aestivum* L. с использованием цитогенетических маркеров: Дис. ... канд. биол. наук. М., 2008. 160 с.
- Дорофеев В.Ф., Филатенко А.А., Мигушова Э.Ф. Определитель пшениц. (Методические указания) / Под ред. В.Ф. Дорофеева. Л.: ВИР, 1980. 105 с.
- Культурная флора СССР / Под общ. рук. В.Ф. Дорофеева. Т. 1. Пшеница / Дорофеев В.Ф., Филатенко А.А., Мигушова Э.Ф. и др. Л.: Колос, 1979. 346 с.
- Мальчиков П.Н. Селекция яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье: Дис. ... д-ра с.-х. наук. Безенчук, 2009. 402 с.
- Мережко А.Ф., Удачин Р.А., Зуев В.Е. и др. Пополнение, сохранение в живом виде и изучение мировой коллекции пшеницы, эгилопса, и тритикале (Методические указания). СПб.: ВИР, 1999. 82 с.
- Мусаев А.Дж., Гусейнов Г.С., Мамедов З.А. Методика полевого опыта по изучению селекционного материала зерновых культур. Баку, 2008. 88 с. (на азербайдж. языке).
- Рустамов Х.Н. Новое в генофонде пшениц (*Triticum* L.) Нахчыванской АР // Вестн. Россельхозакадемии. 2013. № 5. С. 29–31.
- Филатенко А.А., Шитова И.П. Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Triticum* L. Л.: ВИР, 1989. 44 с.
- Johnson R., Stubbs R.W., Fuchs E., Chambrlain N.H. Nomenclature for physiologic races of *Puccinia striiformis* infecting wheat // Trans. Brit. Mycol. Soc. 1972. V. 58. P. 475–480.

NEW SAMPLES OF *TRITICUM COMPACTUM* HOST. FROM NAKHCHIVAN AUTONOMOUS REPUBLIC

Kh.R. Rustamov

Institute of Genetic Resources, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan,
e-mail: xanbala.rustamov@yandex.com

Summary

This article analyzes new data on *compactum* wheat (*Triticum compactum* Host.) collected in the Nakhchivan Autonomous Republic (NAR). Two expeditions to various parts of AR, supported by the Science Development Foundation, along with other species, collected 78 accessions of compactum wheat belonging to the groups of varieties convar. *rigidicompactum*, convar. *inflatum*, and convar. *compactum*. The majority of samples (85,5 %) belonged to the varieties var. *splendorigidum*, var. *fetissovii*, var. *asiaticicterinum*, var. *erinaceum*, etc., which are a subgroup of subconvar. *rigidicompactum*. A wide intraspecific variability in growth habit, earing data, resistance to yellow rust, height, architectonic of plants, and ear parameters was revealed.

Key words: compactum wheat, *Triticum compactum*, convar. *rigidicompactum*, subconvar. *rigidicompactum*, convar. *inflatum*, subconvar. *roshanum*, convar. *compactum*, genetic diversity, natural hybridization.

УДК 631.527: 633.111:632.485.12

ГЕНЕТИКА УСТОЙЧИВОСТИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) К ПЫЛЬНОЙ ГОЛОВНЕ (*USTILAGO TRITICI* (PERS.) JENS.) (ОБЗОР)

© 2014 г. В.В. Сюков, С.Е. Поротькин

ГНУ Самарский научно-исследовательский институт
сельского хозяйства Россельхозакадемии, Безенчук, Россия,
e-mail: vsyukov@mail.ru

Поступила в редакцию 25 декабря 2013 г. Принята к публикации 18 июля 2014 г.

На основании собственных оригинальных исследований и анализа литературы обобщены современные положения по генетике устойчивости мягкой пшеницы к пыльной головне. Изложена информация о характере наследования, хромосомной локализации 12 генов устойчивости. Сформирован банк доноров эффективных генов устойчивости яровой мягкой пшеницы к пыльной головне.

Ключевые слова: пшеница, пыльная головня, генетика, гены, хромосомная локализация.

Характер взаимоотношения между видами семейства Poaceae и патогенными грибами порядка Ustilaginales имеет ряд особенностей, осложняющих генетический анализ этих связей. *Ustilago tritici* (Pers.) Jens. (пыльная головня пшеницы) относится к группе грибов с биполярным гетероталлизмом, которые не способны к бесполому размножению в дикариофазе и к заражению растения-хозяина моноспоридиями (Кривченко, 1975; Кузнецов, 1975; Nielsen, Thomas, 1996). То есть культура гриба, с которой мы проводим генетический анализ, может быть и чаще всего бывает гетерогенна по генам вирулентности (Кривченко, 1975; Дружин, Крупнов, 2008). Неоднозначна и генетическая структура растения-хозяина. Если в отношении ржавчинных или мучнисторосяных грибов растение пшеницы выступает в виде диплоидного спорофита определенной генетической структуры, то генетическая система пыльной головни соотносится по крайней мере с тремя генетическими структурами пшеницы: во-первых, это диплоидные ткани материнского растения, во-вторых, триплоидный эндосперм гибридной зерновки и, в-третьих, диплоидные ткани гибридного растения.

Тем не менее и для взаимоотношения пыльной головни и пшеницы выявлено соответствие модели «ген на ген» (Oort, 1963; Sidhu, Person, 1971; Бахарева, 1983). Опираясь именно на подобные представления J. Nielsen (1977, 1982) (Nielsen, Thomas, 1996) идентифицировал у 5 рас пыльной головни гены вирулентности *utv1-utv5*. К настоящему моменту в каталоге генных символов пшеницы зафиксированы 6 генов устойчивости к пыльной головне: *Ut1-Ut4*, *Ut-x* (McIntosh *et al.*, 2013), *Ut6* (Kassa *et al.*, 2013). Наличие комплементарного гену вирулентности *utv5* гена устойчивости *Ut5* дискуссионно.

Анализ работы многочисленных авторов показал, что устойчивость к пыльной головне может контролироваться 1, 2 или 3 генами (Tingey, Tolman, 1934; Caldwell, Compton, 1947; Pugsley, 1953; Heyne, Hansing, 1955; Mathur, Kohli, 1963; Agrawal, Jain, 1965; Nielsen, Thomas, 1996; Sharma *et al.*, 2011; Knox, Menzies, 2012).

В большинстве случаев выявлен аддитивный характер действия генов, в отдельных случаях установлено дубликатное, комплементарное действие нескольких генов. Признак устойчивости наследуется или как доминантный, или как рецессивный в зависимости от совокупного

влияния наследственной конституции изучаемых сортов и специализации патогена (Nielsen, Thomas, 1996; Дружин, Крупнов, 2008; Кнох, Menzies, 2012).

Как показывают наши исследования (Вьюшков и др., 1989, 1993; Сюков и др., 1994; Sjukov, Porotkin, 1998, 2003), в мировой коллекции генов устойчивости к пыльной головне чаще всего представлен ген *Utl*. Еще более представительная группа доноров устойчивости (группа Thatcher), возможно, имеет ген устойчивости (*Utl*), идентичный, аллельный или тесно сцепленный с *Utl* (Вьюшков и др., 1989; Мягкова, Поротькин, 1990). По предположению А.А. Вьюшкова (1998), этот ген мог быть интродуцирован из озимых Крымок (Turkey, Kanred). Но более вероятно, что центральным звеном, объединяющим эти гены, является сорт Hard Red Calcutta, который является общим предком всех трех дифференциаторов с комплементарным гену вирулентности *Utl* геном устойчивости *Utl*: Renfrew (TD-2), Red Bobs (TD-10) (через Marquis) и Florence-Aurore (TD-3) (Genetic Resources... <http://www.wheatpedigree.net>). Marquis стал родоначальником двух ключевых в плане селекции на устойчивость к пыльной головне сортов яровой мягкой пшеницы Thatcher и DC II-21-44.

R. Anderson (1961) отмечал исключительную устойчивость сорта Thatcher ко всем идентифицированным к тому времени расам головни, который сохранял устойчивость в Канаде в течение 40 лет и только в конце 1960-х годов J. Nielsen (1969) обнаружил на нем вирулентную расу.

Thatcher и производные от него сорта Manitou и Neepawa (Zillman, Bushuk, 1979) были устойчивы к пыльной головне в Поволжье (Вишнякова, Ледовская, 1971; Шестакова, Вьюшков, 1975; Вьюшков и др., 1989), в Нечерноземной зоне России (Неттевич и др., 1970), в Сибири (Бахарева, 1981; Тихомиров, 1992), в Северном Казахстане (Плахотник и др., 1981).

Высокую устойчивость к патогену в разных регионах мира в течение многих десятилетий демонстрирует сорт Безенчукская 98, также ведущий свое происхождение от этого генетического пула (DC-II-21-44 / Эритроспермум Б-047).

А.П. Шестакова и А.А. Вьюшков (1974) определили, что устойчивость к пыльной головне сорта яровой мягкой пшеницы Безенчукская 98 детерминирована 3 доминантными генами.

В.И. Кривченко и Ж.А. Бахарева (1984) на гибридах второго поколения выявили два доминантных гена, определяющих устойчивость этого сорта. Высокой устойчивостью к пыльной головне обладают также многие производные от Безенчукской 98 сорта яровой пшеницы, из которых наибольший интерес представляет районированный с 1984 г. в ряде регионов России и Казахстана сорт Жигулевская.

Различия по степени устойчивости этих сортов в сравнении с Thatcher и восприимчивыми к пыльной головне сортами проявлялись наглядно при заражении их несколькими популяциями *Ustilago tritici* и дальнейшем анализе локализации мицелия в щитке, первичном корешке, coleoptile, подсемядольном колене и зародыше зерновки, проводимом по В.И. Кривченко (1984). Если восприимчивые сорта Reward, Жемчужина Заволжья и Саратовская 42 в сильной степени поражаются всеми расами пыльной головни, что проявляется как в щитке, так и в зародыше, то Безенчукская 98 и Thatcher проявляют устойчивость уже в щитке. То же характерно и для Жигулевской при заражении безенчукской и красноярской популяциями. При заражении новосибирской и ульяновской популяциями наблюдается высокий уровень заражения щитка и корешка, но уже начиная с coleoptilia Жигулевская освобождается от мицелия.

Проведенный нами гибридологический анализ в гибридах (прямых и реципрокных) от скрещивания устойчивых сортов Безенчукская 98 (Б-98) и Жигулевская (Ж) с восприимчивыми тестерами к-48198 и Reward (R) показал неоднозначные результаты (Поротькин, Сюков, 2002).

Во всех трех комбинациях, где иммунные к пыльной головне родители Безенчукская 98 и Жигулевская использовались в качестве материнского компонента, наблюдается расщепление, соответствующее трехгенной модели наследования устойчивости, причем в гибридах Б-98/ R и Ж/к-48198 расщепление достоверно близко к ожидаемому 57R : 7S, что соответствует трем доминантным генам устойчивости, а в гибриде Ж/R, скорее всего, речь идет о двух доминантных и одном рецессивном генах. Такое переопределение генетической формулы, сопровождающееся сменой доминирования, может быть связано с особенностями ядерно-цитоплазматических взаимоотношений.

Подобное влияние цитоплазмы на устойчивость–восприимчивость пшеницы к пыльной головне хорошо известно (Dhitaphichit *et al.*, 1989; Булойчик, Волуевич, 1998).

В обратных гибридных комбинациях, где в качестве материнской формы выступает восприимчивый тестер Reward, наблюдается расщепление, соответствующее модели наследования устойчивости двумя доминантными генами. То есть можно предположить, что как Безенчукская 98, так и Жигулевская имеют по два доминантных гена устойчивости к пыльной головне, проявляющихся независимо от направления скрещивания. Третий ген (доминантный у Безенчукской 98 и доминантный или рецессивный у Жигулевской) проявляется нестабильно, подвергаясь эпистазу со стороны цитоплазмы сорта Reward.

Созданные с целью более точной идентификации генов устойчивости к пыльной головне сорта Жигулевская четыре линии, несущие по одному доминантному гену устойчивости, не дают расщепления в гибридах F₂ между собой и с сортом Thatcher.

Таким образом, есть основание говорить лишь об одном точно идентифицированном доминантном гене устойчивости к пыльной головне сорта Жигулевская, идентичном, аллельном или тесно сцепленном с геном *Ut Thatcher* (*UtTh*). Учитывая генеалогию изучаемых сортов, можно считать, что этот ген имеется и у сорта Безенчукская 98, он унаследован от DC-II-21-44.

Хромосомная локализация гена (генов) *Ut1(Ut Th)* в 7В хромосоме осуществлена на замещенных линиях Chinese Spring (Thatcher) P. Dhitaphichit с соавт. (1989). Н.С. Mathur с соавт. (1997) на 20 моносомных линиях сорта Cadet (Merit/Thatcher) выявили предполагаемый главный ген устойчивости (*Ut1?*) на хромосоме 3D, а также два дополнительных на хромосомах 1В и 7D.

R.E. Knox и N.K. Howes (1994) обнаружили сцепление устойчивости к расе пыльной головни T-19 с локализованным в 6AS белковым маркером у группы сортов, также генеалогически связанных: Cadet, Thatcher, RL-4277 (TD-18). То есть однозначно говорить о хромосомной локализации гена *Ut1* пока рано.

Ген устойчивости *Ut2*, комплементарный гену вирулентности сортов-дифференциаторов Kota и Little Club, мало изучен, поскольку не

эффективен против большинства рас пыльной головни (Кривченко, 1984; Rewal, Jhooty, 1986; Nielsen, Thomas, 1996; Дружин, Крупнов, 2008; Knox, Menzies, 2012). J. Nielsen и P.L. Dyck (1988) показали у Little Club один рецессивный ген.

Немецкий сорт Gamma, включенный в эмпирический набор дифференциаторов (RL-2848, TD-8), имеет один доминантный ген устойчивости к пыльной головне *Ut3* (Nielsen, Dyck, 1988). Данных о наличии этого гена в других сортах не имеется. Однако можно предполагать его широкое распространение в устойчивых сортах Германии, Швеции, Чехии (Koga, Peko, Probat, Cesar, Fakir, Jara, Kolibri, Selpek), которые связаны с Gamma общностью происхождения (через Heines Kolben) и схожестью реакции на пыльную головню (Кривченко, 1984; Дружин, Крупнов, 2008; Genetic Resources... <http://www/wheatpedigree.net>).

Ген *Ut4* впервые был определен для сорта из набора дифференциаторов TD-12 (Thatcher/Regent). Однако J. Nielsen и P.L. Dyck (1988) показали, что эта линия полигенна по устойчивости к пыльной головне. В обновленном наборе дифференциаторов TD-12 заменен на моногенную линию TD-12a (Thatcher/Regent/Reward). В наших исследованиях донором высокоэффективного гена устойчивости к пыльной головне является сорт Норе. Исходя из генеалогии, именно этот ген мы идентифицируем как *Ut4*. Хромосомная локализация этого гена в 7А хромосоме осуществлена на замещенных линиях Chinese Spring (Hope) (Dhitaphichit *et al.*, 1989).

Как уже отмечалось, наличие комплементарного гену вирулентности *utv5* гена устойчивости *Ut5* находится под вопросом, и в официальный каталог генных символов пшеницы (McIntosh *et al.*, 2013) он не включен. Однако R.G. Saini с соавт. (1989) выявили один общий ген устойчивости к пыльной головне как у южноафриканского сорта Sonop (TD-14), для которого первоначально ген *Ut5* и был определен, так и у сортов NP-824 и Col.222.

Ген *Ut6* выявлен M.T. Kassa с соавт. (2013) у сорта AC Foremost на хромосоме 5BL. Ген тесно сцеплен с молекулярными маркерами Xgprw5029 и Xbarc 232 на расстоянии, соответственно, 1,3 cM и 2,8 cM.

С помощью ДНК-маркеров на хромосоме 2BL J.D. Procunier с коллегами (1997) локали-

зовали ген устойчивости *Utx* у канадского сорта пшеницы CDC Biggar (Tobari 66/Romany 66).

На замещенных, дителосомных и аллоплазматических линиях P. Dhitaphichit с соавт. (1989) показали, что сорт Chinese Spring обладает частичной устойчивостью (поражение до 50 %) к пыльной головне, детерминированной факторами на гомеологичных хромосомах 1AS, 1BS, 1DS. Нами были проведены исследования на наборе замещенных линий Chinese Spring (Thatcher) при заражении расой 16 пыльной головки, к которой Chinese Spring устойчив. Отсутствие поражения пыльной головней всех линий, кроме линии Chinese Spring (Thatcher 2A), поражающейся на 56 %, дает основание предполагать наличие в хромосоме 2A гена устойчивости к пыльной головне, отличного и не сцепленного с геном *Utl*. Гену присвоен символ *UtlCS*.

В мировой коллекции яровой мягкой пшеницы имеется еще значительное число форм с высокой устойчивостью к *Ustilago tritici* (Pers.) Jens. Гибридологический анализ в сетевых скрещиваниях позволил определить еще несколько кандидатов в гены.

Ген *UtlM*, не аллельный *Utl1* и *Utl4*, выявлен у итальянского сорта Mara. Производными от Mara являются устойчивые к расе 16 сорта Asciano, Bastion, Blonda.

Высокой устойчивостью к безенчукской популяции пыльной головки обладает группа

сортов, связанных происхождением с сортами озимой пшеницы Аврора и Кавказ. Устойчивость сортов Тулайковская юбилейная (Аврора/WS-1877//Безенчукская-129), Veery#1, Veery#3 (Мексика) наследуется моногенно. Однако анализ зараженного пыльной головней потомства F_2 гибрида Veery#3/Тулайковская юбилейная показывает, что их гены устойчивости (условные символы *UtlR₁* и *UtlR₂*) не аллельны и не сцеплены друг с другом.

Группа сортов яровой мягкой пшеницы (Ботаническая 2, Харьковская 2, Харьковская 6, Харьковская 8, Харьковская 10), имеющих высокую устойчивость к пыльной головне и связанных по генеалогии с сортом ППГ 56, оказалась неоднородной по генетике устойчивости. Сорта Харьковская 2, Харьковская 6, Харьковская 8 не давали расщепления в F_2 гибридов с сортом Thatcher, т. е. защищены, по-видимому, геном *Utl1* или аллельным ему. Анализ гибридов с участием сортов Ботаническая 2 и Харьковская 10 (расщепление по устойчивости в их гибридах с Thatcher и Норе и отсутствие расщепления в гибриде Ботаническая 2/Харьковская 10) позволяет предполагать у них наличие высокоэффективного гена *UtlB*, унаследованного, по-видимому, от пырея (через ППГ-56).

Таким образом, в распоряжении селекционеров имеется эффективный набор высокоэкспрессивных генов устойчивости к *Ustilago tritici* (табл.).

Таблица

Гены устойчивости мягкой пшеницы к пыльной головне

Ген	Доноры гена	Хромосомная локализация
<i>Utl 1(Utl Th)</i>	Marquis, Red Bobs, Renfrew, Thatcher, Neepawa, Manitou, Безенчукская 98, Жигулевская	7B (3D, 6AS)
<i>Utl2</i>	Kota, Little Club	
<i>Utl3</i>	Carma	
<i>Utl 4</i>	Hope, CN-18131	7A
<i>Utl5</i>	Sonop, NP-824, Col.222	
<i>Utl6</i>	AC Foremost	5BL
<i>Utx</i>	CDC Biggar	2BL
<i>Utl M</i>	Mara	
<i>Utl R1</i>	Тулайковская юбилейная	
<i>Utl R2</i>	Veery's	
<i>Utl CS</i>	Chinese Spring	2A (1AS, 1BS, 1DS)
<i>Utl B</i>	Ботаническая 2, Харьковская 10	

ЛИТЕРАТУРА

- Бахарева Ж.А. Устойчивость зерновых культур к головневым болезням в Западной Сибири: Дис. ... канд. с.-х. наук. Новосибирск, 1981. 135 с.
- Бахарева Ж.А. Генетический контроль устойчивости яровой пшеницы к пыльной головне // Проблемы селекции сельскохозяйственных растений. Новосибирск, 1983. С. 84–90.
- Булойчик А.А., Волуевич Е.А. Полиморфизм аллоплазматических линий мягкой пшеницы по устойчивости к пыльной головне // Цитология и генетика. 1998. Т. 32. № 2. С. 57–65.
- Вишнякова М.И., Ледовская В.Н. Селекция яровой мягкой пшеницы на иммунитет к пыльной головне и бурой листовой ржавчине // Тр. Ульяновск. гос. обл. с.-х. опытной станции. Ульяновск: Кн. изд-во, 1971. Т. 5. С. 176–184.
- Вьюшков А.А. Селекция яровой мягкой и твердой пшеницы в Среднем Поволжье: Дис. д-ра с.-х. наук. Безенчук, 1998. 66 с.
- Вьюшков А.А., Сюков В.В., Поротькин С.Е. и др. Эффективные доноры устойчивости к основным болезням и вредителям, лимитирующим урожай зерна яровой пшеницы в условиях орошения: Деп. рукопись 73 ВС-92 Л Деп. Безенчук, 1989. 75 с.
- Вьюшков А.А., Сюков В.В., Поротькин С.Е., Шевченко С.Н. Пути использования доноров в селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к болезням // Аграрная наука – производству: Тез. докл. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию Самарского НИИСХ. Безенчук, 1993. С. 63–64.
- Дружин А.Е., Крупнов В.А. Пшеница и пыльная головня. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2008. 160 с.
- Кривченко В.И. Методы расовой дифференциации возбудителей головневых болезней зерновых злаковых культур // Иммунитет сельскохозяйственных растений к болезням и вредителям. М., 1975. С. 264–269.
- Кривченко В.И. Устойчивость зерновых колосовых к возбудителям головневых болезней. М., 1984. 304 с.
- Кривченко В.И., Бахарева Ж.А. Генетический анализ устойчивости яровой пшеницы к пыльной головне // Генетика. 1984. Т. 20. № 8. С. 1337–1343.
- Кузнецов Л.В. Генетика пола и патогенность головневых грибов // Иммунитет сельскохозяйственных растений к болезням и вредителям. М., 1975. С. 269–274.
- Мягкова Д.В., Поротькин С.Е. Наследование устойчивости яровой пшеницы к пыльной головне // Проблемы селекции зерновых культур на устойчивость к болезням и неблагоприятным условиям среды. М., 1990. С. 84–85.
- Неттевич Э.Д., Сергеев А.В., Лызлов Е.В. Селекция яровой пшеницы, ячменя и овса. М.: Россельхозиздат, 1970. 192 с.
- Плахотник В.В., Троицкая Л.А., Шевченко А.Н. Расовый состав пыльной головки пшеницы в Целиноградской области // Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных опытов по земледелию и растениеводству. Вып. 2. Целиноград, 1981. С. 15–18.
- Поротькин С.Е., Сюков В.В. Генетическая детерминация устойчивости к пыльной головне у сортов яровой мягкой пшеницы Безенчукская-98 и Жигулевская // Репродуктивная биология, генетика и селекция: Сб. науч. тр., посвящ. 90-летию со дня рождения профессора С.С. Хохлова. Саратов, 2002. С. 113–120.
- Сюков В.В., Шевченко С.Н., Поротькин С.Е. Генетические основы селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к грибным болезням // К 75-летию Самарского СХИ: Сб. науч. тр. ССХИ. Кинель, 1994. Ч. 1. С. 58–63.
- Тихомиров В.Т. Селекционно-иммунологические основы повышения устойчивости зерновых культур к головневым болезням в Восточной Сибири: Дис. д-ра с.-х. наук. Красноярск, 1992. 442 с.
- Шестакова А.П., Вьюшков А.А. Наследование устойчивости яровой пшеницы к пыльной головне *Ustilago tritici* (Pers) Jens // Генетика. 1974. Т. 10. № 8. С. 17–24.
- Шестакова А.П., Вьюшков А.А. Проявление устойчивости к пыльной головне у сортов и гибридов яровой пшеницы // Наука и эффективность сельскохозяйственного производства: Сб. науч. тр. Куйбышевская с.-х. опыт. ст. Куйбышев: Кн. изд-во, 1975. С. 100–115.
- Agrawal R.K., Jain K.B. Inheritance of resistance of NP 790 wheat to loose smut // Indian J. Genet. Plant Breed. 1965. V. 25. No. 3. P. 376–380.
- Anderson R.G. The inheritance of leaf rust resistance in seven varieties of common wheat // Canad. J. Plant Sci. 1961. V. 41. No. 2. P. 342–359.
- Caldwell R.M., Compton L.E. Inheritance of resistance to loose smut of wheat, *Ustilago tritici* in the varietal cross Trumbull × Wabash // Phytopathology. 1947. V. 37. No. 1. P. 4–11.
- Dhitaphichit P., Jones P., Keane E.M. Nuclear and cytoplasmic gene control of resistance to loose smut (*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.) in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 1989. V. 78. No. 4. P. 897–903.
- Genetic Resources Information System for Wheat. <http://wheatpedigree.net>
- Heyne E.G., Hansing E.D. Inheritance of resistance to loose smut of wheat in the crosses Kawvale × Clarkan // Phytopathology. 1955. V. 45. No. 1. P. 8–10.
- Kassa M.T., Menzies J.G., McCartney C.A. Mapping of the loose smut resistance gene Ut6 in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Breeding. 2013. Doi:10.1007/s11032-013-9973-2
- Knox R., Menzies J. Resistance in wheat to loose smut // Disease resistance in wheat / Ed. I. Sharma. CABI Publishing. 2012. P. 160–190.
- Knox R.E., Howes N.K. A monoclonal antibody chromosome marker analysis used to locate a loose smut resistance gene in wheat chromosome in wheat 6A // Theor. Appl. Genet. 1994. V. 89. Iss. 6. P. 525–537.
- Mathur H.C., Kohli S.P. Inheritance of resistance to loose smut in *Triticum aestivum* // Indian J. Genet. Plant Breed. 1963. V. 23. No. 3. P. 256–258.
- Mathur H.C., Chaudhary H.B., Singh S.R. Identification of chromosome carrying genes for resistance to loose smut of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Indian J. Genet. Plant Breed. 1997. V. 57. No. 2. P. 115–119.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat // 12th Intern. Wheat Genet. Symp. Yokohama, Japan, 2013. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/2013/GeneCatalogue>

- Nielsen J. A race of *Ustilago tritici* virulent on Thatcher wheat and its derivatives // Plant Disease Rep. 1969. V. 53. No. 5. P. 393–395.
- Nielsen J. Inheritance of virulence of loose smut of wheat, *Ustilago tritici*, on the differential cultivars Renfrew, Florence × Aurore, Kota and Little Club // Canad. J. Bot. 1977. V. 55. No. 3. P. 260–263.
- Nielsen J. Inheritance of virulence of *Ustilago tritici* on the differential cultivars Carma, Red Bobs and derivative of the cross Thatcher × Regent // Canad. J. Bot. 1982. V. 60. No. 7. P. 1191–1193.
- Nielsen J., Dyck P.L. Three improved differential hosts to identify races of *Ustilago tritici* // Canad. J. Plant Pathol. 1988. V. 10. Iss. 4. P. 327–331.
- Nielsen J., Thomas P. Loose smut // Bunt and smut diseases of wheat. Concept and Methods of diseases management. Mexico, D.F. CIMMYT, 1996. P. 33–47.
- Oort A.J.P. A gene for gene relationship in the *Triticum-Ustilago* system and some remarks on host-pathogen combinations in general // Netherl. J. Plant Path. 1963. V. 69. No. 1. P. 104–109.
- Procunier J.D., Knox R.E., Bernier A.M., Gray M.A., Howes N.K. DNA markers linked to a T10 loose smut resistance gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Genome. 1997. V. 40. No. 2. P. 176–179.
- Pugsley A.T. The resistance of White Federation and Dundee 48 wheat to *Ustilago tritici* (loose smut of wheat) // J. Austr. Inst. Agr. Sci. 1953. No. 9. P. 238–240.
- Rewal H.C., Jhooty J.S. Physiologic specialization of loose smut of wheat in the Punjab State of India // Plant Disease. 1986. V. 70. No. 3. P. 228–230.
- Saini R.G., Sharma S.C., Gupta A.K. Genetic of loose smut resistance in three cultivars of wheat // Plant Dis. Res. 1989. V. 4. Iss. 1. P. 12–14.
- Sharma I., Bains N.S., Soha V.S., Sharma R.C. Eight loci for resistance to *Ustilago tritici* race T11 indicated in 20 wheat lines // Cereal Res. Commun. 2011. V. 39. No. 3. P. 376–385.
- Sidhu G., Person C. Genetic control of virulence in *Ustilago hordei*. II Segregations for higher levels of virulence // Canad. J. Genet. Cytol. 1971. V. 13. P. 173–1781.
- Sjukov V.V., Porotkin S.E. Breeding of soft wheat (*T. aestivum*) resistant to diseases in the Middle Volga Region // Sustainable agriculture for food, energy and industry. London, 1998. V. 1. P. 245–246.
- Sjukov V., Porotkin S., Milokhin A. Genetic resources of spring wheat resistance to loose smut // Abstr. of 1st Central Asian Wheat Conf. Almaty, June 10–13, 2003. Almaty, 2003. P. 630.
- Tingey D.C., Tolman B. Inheritance of resistance to loose smut in certain wheat crosses // J. Agric. Res. 1934. V. 48. No. 7. P. 631–655.
- Zillman R.R., Bushuk W. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. III. Catalogue of electrophoregram formulas of Canadian wheat cultivars // Can. J. Plant Sci. 1979. V. 59. No. 2. P. 287–298.

GENETICS OF COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) RESISTANCE TO LOOSE SMUT (*USTILAGO TRITICI* (PERS.) JENS.) (REVIEW)

V.V. Syukov, S.E. Porotkin

Samara Research Institute of Agriculture, Bezenchuk, Russia,
e-mail: vsyukov@mail.ru

Summary

The authors summarize their own research and data from the literature to overview the current knowledge of the genetics of soft wheat resistance to loose smut. The inheritance and chromosomal location of 12 resistance genes are considered. A bank of donors of efficient genes for spring wheat resistance to the pest has been established.

Key words: wheat, loose smut, genetics, genes, chromosomal location.

УДК 575:577.2:576.3

МИКРОСАТЕЛЛИТНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ДОНСКИХ АБОРИГЕННЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА (*VITIS VINIFERA* L.)

© 2014 г. **Е.Т. Ильницкая, С.В. Токмаков, И.И. Супрун**

Государственное научное учреждение
Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Россельхозакадемии, Краснодар, Россия,
e-mail: kubansad@kubannet.ru; ilnitskaya79@mail.ru

Поступила в редакцию 19 июня 2014 г. Принята к публикации 22 августа 2014 г.

Местные аборигенные сорта – важная часть генофонда винограда. Получены ДНК-профили 11 аборигенных донских сортов винограда по микросателлитным локусам VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 и VrZAG79. Указанные SSR-маркеры рекомендованы союзом генетиков винограда как основные для генотипирования *Vitis vinifera*. В качестве референсных сортов в данной работе использованы Шардоне и Каберне-Совиньон. Маркеры были объединены в мультиплексные наборы, позволяющие анализировать по два локуса одновременно. Количество выявленных аллелей по локусам варьировало от 5 (VVS2, VMD7) до 11 (VVMD5) на локус в исследуемой выборке донских сортов винограда. Изученные сорта винограда обладают различными наборами аллельных комбинаций по проанализированным локусам. Кластерный анализ, проведенный по результатам генотипирования, показал, что наиболее генетически близки друг другу сорта Сибирьковский и Пухляковский белый.

Ключевые слова: *Vitis vinifera*, аборигенные сорта, генотипирование, SSR-маркеры.

ВВЕДЕНИЕ

Аборигенные стародавние сорта различных регионов возделывания винограда, как и дикие формы – ценная часть мирового генофонда культуры. В последнее десятилетие наиболее актуальным стало изучение местных сортов на молекулярно-генетическом уровне. Исследования на уровне ДНК являются наиболее информативным методом анализа генотипов растений. В работах по изучению генетического разнообразия, идентификации сортов наиболее распространенными являются маркерные системы, основанные на вариабельности микросателлитных участков ДНК. Микросателлиты (SSR – simple sequence repeats) – tandemные повторы простых последовательностей в структуре ДНК, источник полиморфизма которых – сайт-специфическое варьирование длины повтора, что, в свою очередь, обусловлено различием в числе единиц повтора (Schlotterer, Soller,

1997). Микросателлитные последовательности распространены повсеместно в геноме высших растений. Преимущества SSR-маркеров – кодоминантный тип наследования, высокая дифференцирующая способность, воспроизводимость результатов.

На современном этапе науки ДНК-профили сортов дополняют традиционное ампелографическое описание и агробиологические характеристики, позволяя точно идентифицировать сорта, изучать их происхождение, выявлять синонимы и примеси в коллекциях.

Исследования биологического разнообразия виноградных лоз регионов Кавказа и Причерноморья (северных ареалов Черного моря) особо значимы в рамках проблемы «эрозии генов» и широко признаны в мире в силу их огромного значения как первичного центра происхождения евразийского культурного винограда (Турок и др., 2006). Так, при исследовании генплазмы болгарского винограда был изучен полимор-

физм ядерных и хлоропластных микросателлитных локусов у 51 образца дикорастущего винограда различных регионов Болгарии и 19 местных стародавних сортов (Dzhambazova *et al.*, 2009). В результате работы были выявлены аллели, ранее не описанные по изучаемым локусам. Генотипирование 33 стародавних сортов Словении по 21 микросателлитному локусу выявило несколько сортов-синонимов и при этом не подтвердило ранее предполагаемое близкое родство с некоторыми сортами винограда из соседних стран (Stajneri *et al.*, 2008).

Юг России – Краснодарский край, Ростовская область, Дагестан – основная зона виноградарства Российской Федерации. Многие аборигенные донские сорта представляют значительную ценность как для возделывания, так и для использования в селекционной работе. Одицавшие лозы на правобережье Дона могут свидетельствовать о том, что такое многообразие сортов и форм винограда с ягодами, разнообразными по величине, окраске, вкусовым качествам, могло возникнуть только в результате его возделывания в течение многих сотен лет (Алиев и др., 2005). Таким образом, изучение разнообразия стародавних донских сортов на молекулярно-генетическом уровне представляет особый интерес.

Целью работы являлось изучение полиморфизма микросателлитных локусов аборигенных донских сортов винограда *Vitis vinifera*, определение степени генетического сходства указанных сортов и составление SSR-фингерпринтов изученных генотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы аборигенные сорта винограда Дона: Варюшкин, Бессергеновский 1, Красностоп золотовский, Кумшацкий белый, Сибирьковский, Сыпун черный, Цимладар, Пухляковский белый, Махроватчик, Плечистик, Кизилловый, включенные в российскую ампелографическую коллекцию в г. Анапе. ДНК выделяли из молодых листьев апикальной части побегов 4–5 типичных кустов сорта методом СТАВ (Rogers, Bendich, 1985).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили согласно стандартной процедуре (Шибата, 1999). Разделение продуктов ПЦР

проводили методом электрофореза в агарозном 2 %-м геле (при оптимизации параметров ПЦР) и с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130. Анализировали продукты ПЦР и рассчитывали размер фрагментов с помощью компьютерных программ Gene Mapper и Peak Scanner. В исследовании были задействованы микросателлитные маркеры, рекомендованные для молекулярно-генетической паспортизации генотипов *Vitis vinifera* Европейской базой данных и проектом GrapeGen06: VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 и VrZAG79 (This *et al.*, 2004). В качестве контрольных (референсных) сортов в работе использованы Шардоне и Каберне-Совиньон, аллельный состав которых по изучаемым SSR-локусам известен (This *et al.*, 2004), что дает возможность анализировать получаемые результаты и сопоставлять данные по генотипированию винограда из различных лабораторий.

При оценке результатов микросателлитного анализа матрица генетических дистанций была построена с использованием коэффициентов (индексов) подобия по М. Nei и W. Li (1979). Кластерный анализ выполнен методом попарного невзвешенного кластирования с арифметическим усреднением (UPGMA) и методом ближайших соседей (NJ) с использованием FreeTree Application 0.9.1.50 (ZDAT v.o.s.). Дендрограмма была построена в программе TreeView (Win32) 1.6.6. Фактическая и ожидаемая гетерозиготность, эффективное число аллелей рассчитаны в соответствии с работой Martines с соавт. (2006) с использованием программы GenAlEx 6.3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении генотипирования SSR-маркеры были объединены в мультиплексные наборы с учетом диапазонов длин амплифицируемых фрагментов по конкретным локусам, согласно литературным данным, и температуры отжига праймерных пар, при использовании различных флуоресцентных красителей в одном наборе. Мультиплексные наборы позволяют оптимизировать процедуру генотипирования и значительно снизить стоимость его проведения.

Генотипирование сортов проводилось следующими маркерными парами: VVS2 + VVMD7;

VVMD27 + VVMD5; VrZAG62 + VrZAG79. В ходе фрагментного анализа продуктов ПЦР оптимальные сочетания SSR-маркеров позволили получить точно интерпретируемые результаты. На рис. 1 в качестве примера представлен результат анализа ДНК сорта Кизилловый по SSR-локусам VVS2 и VVMD7. Наличие двух

пиков по каждому маркеру говорит о гетерозиготности изучаемого образца по данным локусам.

В табл. 1 представлены результаты генотипирования 11 донских аборигенных сортов винограда по шести микросателлитным локусам, рекомендованным в качестве основных

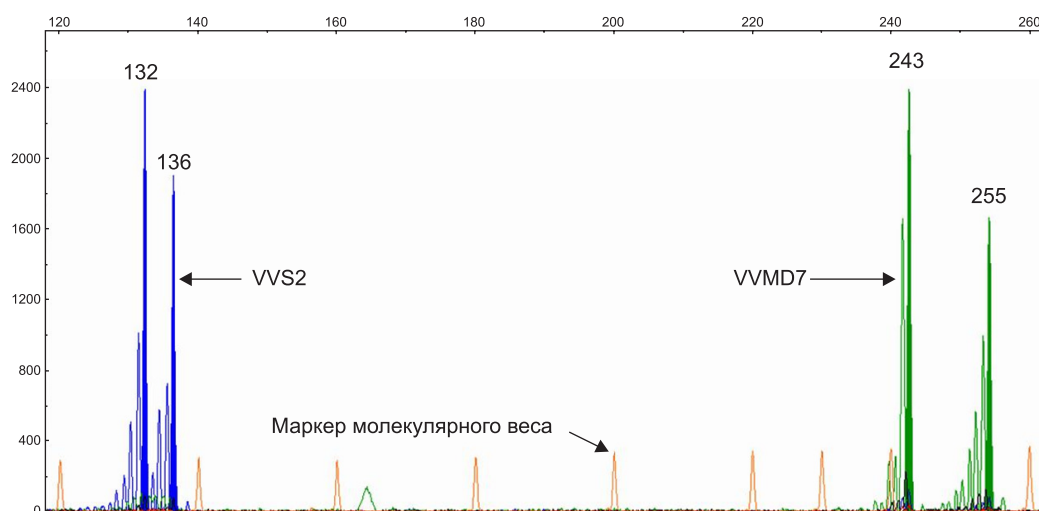


Рис. 1. Результат фрагментного анализа продуктов мультиплексной ПЦР сорта Кизилловый с SSR-маркерами VVS2 и VVMD7.

Таблица 1

Микросателлитные ДНК-профили 11 аборигенных донских сортов винограда

Сорта	Размеры аллелей SSR-локусов, п.н.											
	VVS2		VVMD7		VVMD27		VVMD5		VrZAG62		VrZAG79	
Каберне-Совиньон	138	150	240	240	175	189	234	242	188	194	248	248
Шардоне	136	142	240	243	181	189	236	240	188	196	244	246
Донские сорта												
Бессергеновский 1	142	144	243	253	183	185	238	242	188	200	240	252
Варюшкин	132	142	249	249	187	196	240	242	198	204	254	254
Махроватчик	144	144	251	253	187	189	230	242	194	204	244	252
Плечистик	142	144	243	251	187	194	230	248	194	196	252	252
Пухляковский белый	132	142	243	243	181	183	242	250	190	190	254	262
Кизилловый	132	136	243	255	179	187	238	248	188	200	252	252
Кумшацкий белый	134	144	243	253	191	198	234	246	190	202	254	254
Красностоп золотовский	132	144	243	243	191	191	226	250	190	198	246	258
Сибирьковский	132	142	243	243	181	183	232	242	190	190	254	262
Сыпун черный	142	144	243	251	196	196	236	250	196	206	252	260
Цимладар	136	144	243	249	191	198	242	246	190	204	254	254

для генотипирования *V. vinifera*. Вид *V. vinifera* в целом и, соответственно, сорта винограда обладают диплоидным набором хромосом (за редким исключением) и перекрестным типом опыления. Этим объясняется то, что по большинству локусов изученные образцы гетерозиготны. Но все сорта, кроме Бессергеновского 1, гомозиготны хотя бы по одному SSR-локусу (например сорт Варюшкин – по локусу VrZAG79, Махроватчик – по VVS2, Сибирьковый – по локусам VVMD7 и VrZAG62 и т. д.), что видно из табл. 1.

Изученные сорта обладают различными наборами аллельных комбинаций: все исследуемые генотипы показали как минимум одну сортоспецифичную комбинацию аллелей.

Количество выявленных аллелей (Na) по изученным SSR-локусам варьировало от 5 (VVS2, VMD7) до 11 (VVMD5), в среднем 8 аллелей/локус (табл. 2). Функцией от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнимости частот аллелей является эффективное число аллелей (Ne) и, таким образом, оно является мерой генетического разнообразия. Эффективное число аллелей оценивает величину, обратную гомозиготности, и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых гетерозиготность будет равна фактической (Kimura, Crow, 1964; Девятова и др., 2011). Среднее значение Ne – 5,282. Ожидаемая гетерозиготность варьировала в небольшом диапазоне: от 0,645 (VVMD7) до 0,872 (VVMD27). Фактическая гетерозиготность определена как 1,00 по VVMD5 и 0,91 по VVS2, что указывает на высокий уровень генетической полиморфности данных локусов внутри изученной группы сортов. Среднее значение фактической гетерозиготности (0,788) было немного выше ожидаемой (0,783).

Частота встречаемости различных аллелей 6 микросателлитных локусов в исследуемой выборке варьировала от 5 до 54 % (рис. 2).

Таблица 2

Характеристика аборигенных сортов по микросателлитным локусам

SSR-локус	Na	Ne	Ho	He
VVS2	5	3,723	0,909	0,731
VVMD7	5	2,814	0,636	0,645
VVMD27	10	7,806	0,818	0,872
VVMD5	11	7,333	1,000	0,864
VrZAG62	9	6,050	0,818	0,835
VrZAG79	8	3,967	0,545	0,748
Среднее	8	5,282	0,788	0,783

Примечание. Na – общее число идентифицированных аллелей; Ne – эффективное число аллелей; Ho – фактическая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность.

В изученной группе сортов Дона как редкие выделены аллели по локусу VVMD27 в сортах Плечистик, Бессергеновский 1, Кизилый и Махроватчик: 194, 185, 179 и 189 п.н. соответственно. Однако аллель 189 присутствует в обоих референсных сортах. По локусу VVMD5 в генотипах изученных донских сортов определили два аллеля, не обнаруженные ни в контрольных сортах, ни в других изученных донских – 226 и 232 п.н. в сортах Красностоп золотовский и Сибирьковый соответственно. Маркер VVS2 выявил аллель 134 п.н. только в сорте Кумшацкий белый. По локусу VVMD7 в сорте Кизилый определен аллель 255 п.н., не встречающийся в других анализируемых сортах. В сортах Кумшацкий белый и Сыпун черный – по локусу VrZAG62 выделены аллели 202 и 206 п.н. соответственно. По локусу VrZAG79 аллели 240, 258 и 260 п.н. определены в изученной выборке только в сортах Бессергеновский 1, Красностоп золотовский и Сыпун черный.

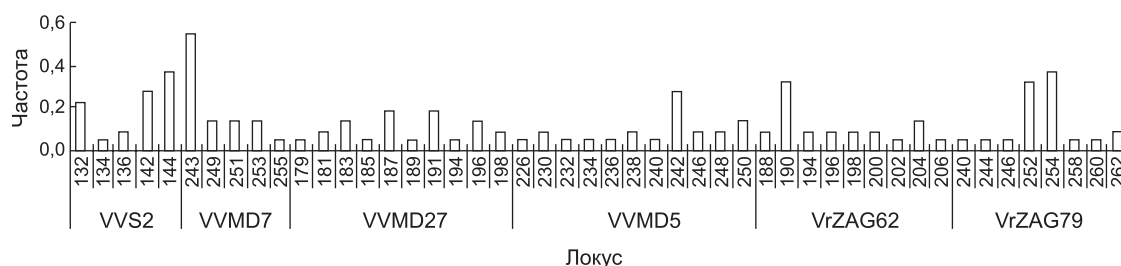


Рис. 2. Частота встречаемости выявленных аллелей.

Кластерный анализ матрицы генетических дистанций, созданной на основе выявленных значений аллелей исследуемых сортов по 6 микросателлитным локусам, разделил в две отдельные группы аборигенные сорта Дона и классические французские сорта винограда, используемые в качестве контроля (рис. 3). В выборке донских сортов обозначилось два кластера: один включает в себя сорта Кизилловый, Бессергеновский 1, Сыпун черный, Махроватчик, Плечистик; второй – Красностоп золотовский, Кумшацкий белый, Цимладар, Варюшкин, Пухляковский белый, Сибирьковский. Дендрограммы, сформированные по результатам анализа данных методами UPGMA и NJ, получились идентичными, отличались только длиной ветвей.

Сорт Сибирьковский на основании морфологических, ампелографических исследований принято считать естественным сеянцем сорта Пухляковский белый (Алиев и др., 2006). В

результате микросателлитного анализа исследуемой группы сортов именно эти два сорта оказались наиболее «близки» друг другу, различаясь только по одному аллелю локуса VVMD5. Так, в сорте Сибирьковский определены аллели размером 232–242 п.н., а в Пухляковском белом – 242–250 п.н. Таким образом, микросателлитный анализ подтверждает генетическую близость данных сортов и предположение о происхождении сорта Сибирьковский.

В результате работы получены ДНК-профили 11 аборигенных донских сортов винограда. Апробирован и результативно применен мультиплексный SSR-анализ. Показана информативность набора микросателлитных маркеров VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 и VrZAG79 для генотипирования донских сортов винограда. Наибольший полиморфизм в изученной выборке сортов выявлен по локусу VVMD5 – определено 11 аллелей. В среднем определено 8 аллелей на локус, что сопоставимо с данными

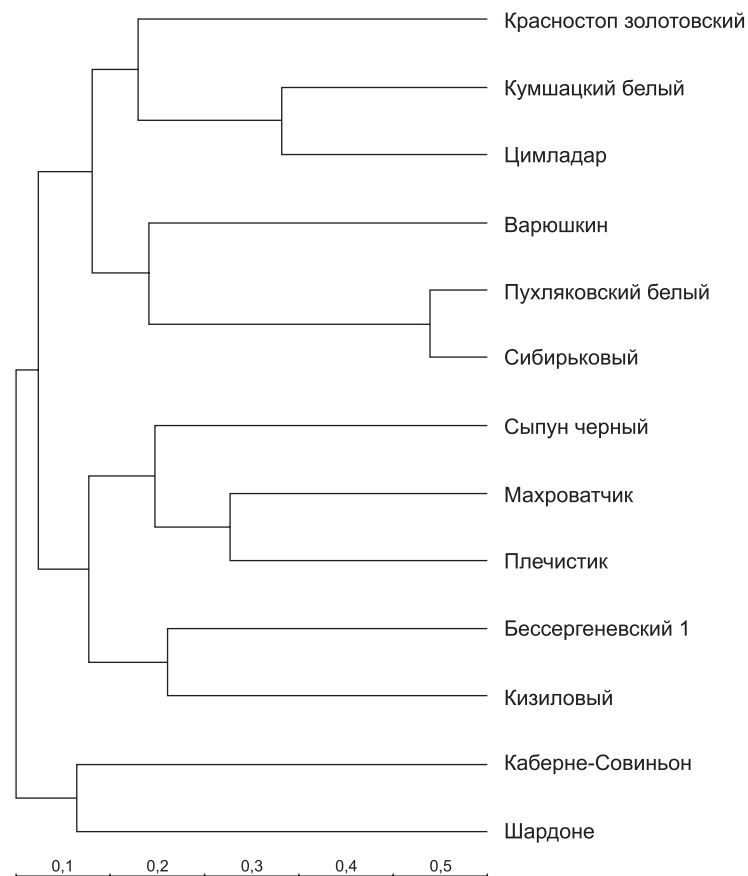


Рис. 3. Дендрограмма генетического сходства донских аборигенных сортов винограда по методу UPGMA.

Bowers с соавт. (1996) в работе на традиционных европейских винных и столовых сортах (в среднем 7,5 аллелей/локус), а также с исследованиями Stajneri с соавт. (2008) 32 стародавних сортов винограда Словении (8 аллелей/локус). При изучении испанских сортов I.P. Martin с соавт. (2003) и J. Ibanez с соавт. (2003) определили 9–13 и 4–16 аллелей/локус соответственно. В работе L.E. Martinez с соавт. (2006) с 25 сортами *V. vinifera* из Перу и Аргентины также получены более высокие значения: 6–13, в среднем 9,67 аллелей/локус. Увеличение выборки стародавних донских сортов, возможно, позволит выявить большее разнообразие аллелей в исследуемых локусах. Идентификация генотипов аборигенных южнороссийских сортов винограда будет продолжена: планируется расширить количество изучаемых генотипов, при необходимости – увеличить число SSR-маркеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края. Грант № 13-04-96541p_юг_a.

ЛИТЕРАТУРА

- Алиев А.М., Кравченко Л.В., Наумова Л.Г. Происхождение донских сортов винограда // Виноделие и виноградарство. 2005. № 3. С. 36–37.
- Алиев А.М., Кравченко Л.В., Наумова Л.Г., Ганич В.А. Донские аборигенные сорта винограда. Новочеркасск: Изд-во ЮРГТУ, 2006. 84 с.
- Девятова Н.М., Бельтюкова Н.Н., Назаров А.В. Анализ генетического разнообразия *Poa pratensis* L. в условиях нефтяного загрязнения почв с использованием IRAP-маркеров // Аграрн. вестн. Урала. 2011. № 1. С. 18–20.
- Турок Й., Маградзе Д.Н., Трошин Л.П. Сохранение генотипа евразийского винограда – первостепенная проблема европейских ампелографов // Науч. журн. КубГАУ [Электронный ресурс]. Краснодар: КубГАУ, 2006. № 01 (17). Режим доступа: <http://www.ej.kubagro.ru/2006/01/19/>
- Шибата Д.К. Полимеразная цепная реакция и молекулярно-генетический анализ биоптатов // Молекуляр. клинич. диагностика. М.: Мир, 1999. С. 395–427.
- Bowers J.E., Dangi G.S., Vignani R., Meredith C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.) // Genome. 1996. V. 39. P. 628–633.
- Dzhambazova T., Tsvetkov I., Atanasov I. *et al.* Genetic diversity in native Bulgarian grapevine germplasm (*Vitis vinifera* L.) based on nuclear and chloroplast microsatellite polymorphisms // Vitis. 2009. V. 48. No. 3. P. 115–121.
- Ibanez J., Andres M.T., Molino A., Borrego J. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellites analysis // Am. J. Enol. Vitic. 2003. V. 54. P. 22–29.
- Kimura M., Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics (US). 1964. V. 49. P. 725–738.
- Martin J.P., Borrego J., Cabello F., Ortiz J.M. Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers // Genome. 2003. V. 46. P. 10–18.
- Martinez L.E., Cavagnaro P.F., Masuelli R.W., Zuniga M. SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties // Plant Sci. 2006. V. 170. P. 1036–1044.
- Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. P. 5269–5273.
- Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Mol. Biol. 1985. V. 19. No. 1. P. 69–76.
- Schlotterer C., Soller M. Polymorphism and locus-specific effects on polymorphism at microsatellite loci in natural *Drosophila melanogaster* populations // Genetics. 1997. V. 146. P. 309–320.
- Stajneri N., Korosec-Korusa Z., Rusjan D., Javornic B. Microsatellite genotyping of old Slovenian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) of the Primorje (coastal) winegrowing region // Vitis. 2008. V. 47. No. 4. P. 201–204.
- This P., Jung A., Boccacci P. *et al.* Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P. 1448–1458.

MICROSATELLITE GENOTYPING OF DON LOCAL GRAPE (*VITIS VINIFERA* L.) VARIETIES

E.T. Ilnitskaya, S.V. Tokmakov, I.I. Suprun

North Caucasian Zonal Research Institute for Horticulture and Viticulture,
Russian Academy of Agricultural Sciences, Krasnodar, Russia,
e-mail: kubansad@kubannet.ru, ilnitskaya79@mail.ru

Summary

Local traditional varieties constitute an important portion of grape genetic resources. DNA profiles for microsatellite loci VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62, and VrZAG79 were obtained for 11 local grape cultivars grown in the Don region. These SSR-markers are recommended as basic for *Vitis vinifera* genotyping. Chardonnay and Cabernet Sauvignon were used as reference cultivars. The markers were combined in multiple sets for simultaneous evaluation of two loci. The total number of different alleles per locus varied from 5 (VVS2, VMD7) to 11 (VVMD5) within the Don cultivars analyzed. The cultivars possessed different sets of allele combinations for loci under study. The genotyping results were subject to cluster analysis. Sibir'kovyi and Pukhlyakovskiy belyi showed the greatest proximity to each other. Molecular studies of local southern Russia grape cultivars will be continued.

Key words: *Vitis vinifera*, local grape cultivars, SSR markers, genotyping.

УДК 634.2:631.52:577.1

ИСТОЧНИКИ ОСНОВНЫХ ХОЗЯЙСТВЕННО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ В СЕЛЕКЦИИ ЧЕРЕШНИ

© 2014 г. Е.М. Алёхина, Л.Д. Чалая, Т.Г. Причко

Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный
научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства
Федерального агентства научных организаций, Краснодар, Россия,
e-mail: kubansad@kubannet.ru

Поступила в редакцию 21 апреля 2014 г. Принята к публикации 18 июля 2014 г.

Представлены результаты многолетних исследований новых перспективных и районированных сортов черешни, выращенных в условиях Краснодарского края, по зимостойкости, товарности и содержанию биологически активных веществ, формирующих антиоксидантные свойства плодов. По полученным данным выделены зимостойкие сорта, предназначенные для селекционного использования. Выявлены ценные сорта с высоким содержанием биологически активных веществ, использование которых в селекционных программах способствует увеличению комплекса витаминов в плодах новых гибридных форм.

Ключевые слова: черешня, сорта, генотипы, хозяйственно ценные признаки, химический состав, наследование признаков.

ВВЕДЕНИЕ

Успешное решение задач по созданию новых высокопродуктивных, устойчивых к неблагоприятным факторам среды и с ценным химическим составом сортов плодовых культур связано с необходимостью углубленного исследования в области частной генетики; привлечением и созданием нового исходного материала; поиском доноров и источников хозяйственно ценных признаков.

Наиболее перспективным является поиск родительских форм, обладающих высокой продуктивностью, устойчивостью к действию абиотических и биотических стрессоров, максимальным содержанием физиологически ценных компонентов химического состава плодов (Алёхина, 2012, 2013; Егоров, 2012; Причко и др., 2014).

Научными исследованиями, проведенными селекционерами в различных климатических условиях, доказана необходимость глубокого и всестороннего знания биологических признаков

и свойств, привлекаемых в селекцию сортов (Савельев, 2002, 2003; Седов, 2003).

Сорта и виды, устойчиво сохраняющие свой фенотип в различных условиях произрастания, характеризуются большей генетической обусловленностью этого признака и более перспективны для селекции (Жуков, 2002; Туровцев, 2005).

Определение способности сорта передавать по наследству те или иные положительные качества служит начальным материалом для дальнейшей селекционной работы. Их использование возможно на нескольких этапах селекционного процесса: выделение источников ценных признаков, выявление отдельных доноров с целью их совмещения в одном генотипе, отбраковка в раннем возрасте гибридов, не имеющих нужных показателей на необходимом уровне, оценка новых перспективных форм в период их вступления в плодоношение.

Основным недостатком сортов черешни, обусловленным ее южным происхождением, является слабая зимостойкость. Поэтому в

селекционной программе черешни одной из сложнейших задач остается сочетание в одном сорте высокой потенциальной продуктивности и устойчивости к отрицательным факторам среды. У большинства сортов установлена высокая степень продуктивности, однако большой вред в реализации потенциальной продуктивности наносят часто повторяемые перепады температур зимнего и весеннего периодов.

Усовершенствование подбора родительских пар и выделение источников ценных признаков в СКЗНИИСиВ позволяют создать генетически разнообразный гибридный материал, полученный от межсортовой гибридизации сортов черешни различных эколого-географических групп для определения характера наследования селекционно ценных и адаптивно значимых признаков (Алёхина 2012, 2013).

Поэтому основной целью данного исследования является изучение и выделение генотипов черешни с положительным проявлением ценных признаков. Их использование в селекционных программах на базе изменчивости признаков и подбора форм для гибридизации позволит создать конкурентоспособные высококачественные сорта, хорошо адаптированные к биотическим и абиотическим стрессорам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в саду сортоизучения черешни, расположенном в ЗАО ОПХ «Центральное», г. Краснодар, и в лабораториях сортоизучения косточковых культур и хранения переработки плодов и ягод ГНУ СКЗНИИСиВ.

Объектами исследования служили сорта черешни (диплоид $2n = 16$) различных эколого-географических групп, относящихся к одному виду *Cerasus avium* L. рода *Cerasus* Mill, различающихся по срокам созревания и химическому составу плодов, которые были использованы в селекционном процессе при создании новых сортов.

Основные селекционные исследования проведены в соответствии с «Программой и методикой селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (1995).

Определение химического состава плодов черешни осуществляли с использованием стандартных методов, согласно «Методиче-

ским указаниям по определению химических веществ для оценки качества урожая овощных и плодовых культур» (1979).

Для определения общих полифенолов в плодах применяли модифицированную методику.

Модифицированная методика определения общих полифенолов в плодах, ягодах и продуктах их переработки

Для определения полифенолов часто используется метод ВЭЖХ, который предусматривает для экстрагирования плодов ацетон, метанол или воду, при этом более достоверные результаты получаются при использовании 70 %-го ацетона или 60 %-го метанола, а экстракция плодов водой дает заниженные результаты.

Представленная методика разработана на основе известного метода определения общих полифенолов с помощью реактива Фолина–Дениса, который предусматривает использование этилового спирта для элюации полифенолов из растительного сырья с последующим измерением величины поглощения на спектрофотометре при длине волны 725 нм или на фотоколориметре при красном светофильтре.

Новизна предложенной методики состоит в том, что для определения общих полифенолов этиловый спирт, используемый для элюации полифенолов из растительного сырья, предусмотренный методом Фолина–Дениса, заменен на 0,1N H₂SO₄, а для построения калибровочной кривой использован флороглюцин.

Математическая обработка результатов

В исследовании была принята методика статистической обработки экспериментальных данных путем парной и множественной корреляции (по: Доспехов, 1985), полученной при помощи компьютерных программ MS Excel и STATISTIKA 6.0.

При статистической обработке определяли среднее значение результатов:

$$\bar{Y} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n Y_k, \quad (1)$$

где $\bar{Y}$ – среднее арифметическое значение.

Отклонение среднего значения для каждого результата определяли по формуле:

$$\bar{Y}_k = Y_k - \bar{Y}. \quad (2)$$

Дисперсию определяли по формуле:

$$S^2(Y_k) = \frac{\sum_{k=1}^n (Y_k - \bar{Y})^2}{n - 1}. \quad (3)$$

Стандартное отклонение отдельного определения и стандартное отклонение среднего результата:

$$S(Y_k) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (Y_k - \bar{Y})^2}{n - 1}}. \quad (4)$$

Надежность полученных результатов проверяли по критерию Стюдента t_α для приведенного числа опытов из избранной доверительной вероятности (надежности) α .

В исследованиях принимали $\alpha = 0,5$ (95 % доверительная вероятность). Критерий t_α с доверительной вероятностью α показывает, во сколько раз модуль разности между истинным значением определяемой величины Y и средним значением $\bar{Y}$ больше стандартного отклонения среднего результата:

$$t_\alpha = (Y - \bar{Y}) : S(Y). \quad (5)$$

Рассчитывали ошибку полученного среднего результата (правильность или степень адекватности):

$$E_\alpha = t_\alpha \cdot S(Y). \quad (6)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях Кубани основными неблагоприятными факторами зимнего периода, влияющими на показатели адаптивности черешни к факторам окружающей среды, являются ранние морозы в начале зимы; критические или близкие к ним низкие температурные воздействия в середине зимы; резкие перепады температуры после оттепелей в конце зимы; поздние – весенние возвратные заморозки.

Исследование этого вопроса показало, что сорта проявляют различную степень устойчивости по компонентам зимостойкости.

Для промышленного использования ценны сорта черешни с высоким уровнем зимостойкости по нескольким компонентам устойчивости: Дрогана желтая (4 компонента), Алая, Краснодарская ранняя, Мелитопольская черная, Донецкий уголек (по 3 компонента), Дайбера черная, Рубиновая Кубани, Кавказская улучшенная, Кавказская, Краса Кубани, Волшебница, Дар изобилия, Сашенька, Южная (по 2 компонента).

Среди генетического разнообразия выявлены генотипы как с положительным, так и с отрицательным проявлением этого признака. Положительные результаты получены при использовании в качестве исходных форм сортов черешни Алая, Краснодарская ранняя, Рубиновая Кубани, Донецкий уголек, Дайбера черная, Мелитопольская черная (табл. 1).

С участием этих сортов получено 20–30 % гибридных форм с повышенной зимостойкостью. При этом отмечено неодинаковое проявление признака «зимостойкость» у исходных сортов в разных семьях, что указывает на различный характер взаимодействия генов.

Сочетание нескольких компонентов в одном генотипе является наиболее ценным, так как позволяет сорту с большей гарантией противостоять отрицательным температурным факторам.

Перспективность сортов черешни для промышленного использования помимо зимостойкости и связанной с ней урожайности определяет и комплекс показателей товарности плодов, к которой относятся размеры, масса, внешний вид и физиологическая ценность, которую формирует химический состав плодов (Причко и др., 2014).

В последние годы большое внимание уделяется созданию крупноплодных сортов как показателя конкурентоспособности сорта, формирующего покупательский спрос (Алёхина, 2012).

По результатам изучения генетического разнообразия черешни были выделены сорта с наиболее высокими и стабильными техническими показателями, независимо от года исследований. К ним относятся сорта российской селекции (СКЗНИИСиВ): Алая, Волшебница, Мадонна, Мак, Черные глаза, Южная и украинской селекции – Анонс, Василиса, Престижная, Крупноплодная, Генеральская – с массой плода не менее 8,6 г (табл. 2).

Это говорит об успехах селекции, что дает возможность замены существующего сорта-мента наиболее распространенных в промышленных садах сортов Краснодарского края: Мелитопольская черная, Дайбера черная, Валерий Чкалов и других, масса плода которых не превышает 7,0 г.

Положительная трансгрессия по этому признаку проявляется не часто, большинство

Таблица 1

Зимостойкость гибридных сеянцев (2006–2013 гг.)

Семья	Количество, шт.		%
	сеянцев в семье	зимостойких сеянцев	
Донецкий уголек × Донецкая красавица	100	33	30
Рубиновая Кубани × Краснодарская ранняя	290	58	20
Дайбера черная × Мелитопольская черная	132	40	22
Полянка × Анонс	150	25	17
Рубиновая Кубани × Донецкий уголек	24	5	20
Ники × Мечта	26	5	16
Полянка × Мечта	150	28	18
Ники × Ранняя Марки	50	8	11
Мелитопольская черная × Кавказская	16	4	25
Алая × Компакт Ламберт	10	2	25
Крупноплодная, свободное опыление	45	5	11
Анонс, свободное опыление	265	50	18
Французская черная, свободное опыление	25	4	16

Таблица 2

Технические показатели плодов крупноплодных сортов черешни (2006–2013 гг.)

Наименование сорта	Масса плода, г среднее, ± E	Средний размер плода, мм		
		Н	Д ₁	Д ₂
Анонс	10,0 ± 0,15	25	30	25
Василиса	9,2 ± 0,30	25	28	23
Престижная	9,2 ± 0,27	25	27	26
Алая*	9,0 ± 1,10	25	30	24
Волшебница*	9,0 ± 0,60	25	27	22
Южная*	8,8 ± 1,50	22	26	22
Черные глаза*	8,8 ± 1,20	24	28	24
Мак*	8,6 ± 1,20	23	25	21
Крупноплодная	8,6 ± 0,15	23	27	23
Генеральская	8,6 ± 0,75	24	25	22
Мадонна*	8,3 ± 0,20	24	25	24
Кавказская*	7,2 ± 0,20	23	23	22
Кавказская улучшенная*	7,8 ± 0,20	23	24	23
Контрастная*	8,3 ± 0,15	23	26	23
Загадка	8,1 ± 1,10	24	26	22
Космическая	8,0 ± 0,25	23	27	22
Утро Кубани*	8,0 ± 1,20	27	29	28
Донецкий уголек	8,0 ± 0,25	27	25	26
Донецкая красавица	8,0 ± 0,25	24	25	24
Солнечный шар	8,0 ± 0,11	22	25	21
Лапинс	8,0 ± 0,10	22	25	21
Сашенька*	8,0 ± 0,55	26	26	23

* Сорта селекции СКЗНИИСиВ.

гибридов имеют плоды, не превосходящие по размеру исходные формы.

Вероятность получения крупноплодных форм в общей массе гибридного материала невелика, составляет 0,5–2 %. В гибридном потомстве преимущество имеет плод промежуточного размера, с массой 5,5–6,0 г.

Хорошо передают по наследству с усилением признака «размер плода» сорта Крупноплодная, Престижная, Анонс, Космическая.

Использование в селекции сортов Гедельфинген, Мелитопольская черная, Валерий Чкалов, Францис позволяет получить гетерозисный эффект, который заключается в превосходстве полученного потомства по некоторым признакам и свойствам над исходными родительскими формами (табл. 3).

На их основе получены первые крупноплодные сорта черешни селекции СКЗНИИСиВ: Алая, Мак, Южная, Утро Кубани, Черные глаза с максимальной массой плода 8–10 г.

Согласно ГОСТу 21922-76 «Черешня свежая», плоды первого товарного сорта по на-

ибольшему поперечному диаметру должны иметь не менее 17,0 мм, второго сорта – не менее – 12 мм.

Судя по диаметру черешен, плоды всех исследованных сортов (интродуцированных и селекции СКЗНИИСиВ) можно отнести к первому товарному сорту при условии отсутствия на плодах градобойн, различных механических повреждений и повреждений вредителями – вишневой мухой (*Rhagoletis cerasi* L.) и болезнями – монилиозом (*Monilia fructigena* Pers.) и класпероспориозом (*Clasterosporium carpophilum* Aderh.).

Кроме хороших товарных качеств, учитываемых в нормативной документации на свежие плоды, взятые в качестве родительских форм сорта должны содержать комплекс биологически активных веществ, главным образом витамин С и полифенолы, обладающие Р-активными свойствами, формирующие лечебно-профилактические качества плодов, которые участвуют во многих обменных процессах (табл. 4).

Таблица 3

Распределение сеянцев черешни в гибридных семьях по размеру плодов

Группа скрещиваний	Количество сеянцев, шт.	Размер плода		
		крупные, %	средние, %	мелкие, %
Крупные × крупные	300	1,5–2,0	50–65	34–48
Крупные × средние	123	1,0–2,0	43–65	34–55
Крупные × мелкие	53	0–0,5	66–70	29–33
Средние × крупные	362	1,0–1,5	74–62	14–25
Средние × средние	267	0–0,5	75–88	12–25
Средние × мелкие	39	0	17–26	74–83
Мелкие × крупные	20	0	36–45	55–64
Мелкие × средние	23	0	50–61	39–50

Таблица 4

Роль витаминов С и Р в формировании лечебно-профилактических качеств плодов

Витамин		Суточная норма потребления взрослым населением, мг	Роль в питании
символ	название		
С	Аскорбиновая кислота (АК)	70,0 (оптимальное); 700,0 (максимальное)	Участвует в процессах белкового и аминокислотного обмена, нормализует деятельность иммунной системы, укрепляет стенки сосудов
Р	Флавоны	Не менее 70,0	Тормозит деятельность гиалуринидазы, вызывающей распад гиалуроновой кислоты, укрепляет стенки сосудов

Комплексный подход к оценке полифенольного состава плодов позволил установить, что плоды черешни содержат от 29,2 до 77,0 мг/100 г катехинов, которые отличаются наибольшей Р-витаминной активностью.

Черешня отличается большим полиморфизмом окраски плодов, которая является идентификационным признаком сорта. Степень окраски плодов черешни находится в зависимости от содержания антоцианов. В окрашенных сортах обнаружено от 60,0 до 298,4 мг/100 г антоциановых пигментов, входящих в группу полифенольных соединений.

Содержание общих полифенолов составляет не менее 120,0 мг/100 г (рис. 1).

Многогранность терапевтического действия полифенольных соединений усиливается во взаимодействии с аскорбиновой кислотой, содержание которой зависит от сортовых особенностей (табл. 5).

Среди исследованных сортов селекции института максимальным количеством аскорбиновой кислоты отличаются сорта: Алая (10,6 мг/100 г), Утро Кубани (9,7 мг/100 г), Мак (9,4 мг/100 г). Среди интродуцированных сортов выделились: Космическая (9,6 мг/100 г), Солнечный шар (9,5 мг/100 г), Крупноплодная (9,4 мг/100 г).

Выделение и применение в качестве родительских форм высоковитаминных сортов способствуют получению наследуемых форм и гибридов с высокими показателями витаминного состава, часто превосходящих родительские формы.

Так, сорт черешни Мелитопольская черная, взятый в качестве одной из родительских форм, содержал не более 8,0 мг/100 г АК в полученном потомстве – от 8,4 (Сашенька) до 11,0 мг/100 г (Дар изобилия).

В полученном гибридном потомстве могут наблюдаться эффекты суммирующего действия генов, обеспечивающего стабильное увеличение отдельных «признаков» в сравнении с исходными родительскими формами.

Особенно ценна коллекция генотипов с идентифицированными генами. Эта информация позволяет целенаправленно использовать их в селекционных программах, в которых селекция идет на признак, генетическая детерминация которого известна.

В настоящее время у черешни имеется очень ограниченное количество сортов с идентифицированными генами. Так, выявлен ряд генов, контролирующих окраску плода: «А» – темная окраска (Бахор), «Аа» – светлая окраска (Дюшес желтый, Дрогана желтая); оттенки плодов «В» – темный, «Вb» – светлый (Дюшес розовый), «FF» – окрашенный сок плодов (Черноглазка); «V» – сила роста (Компакт Ламберт) (Савельев, 2002).

Несмотря на полученные результаты в селекции черешни, проблема совершенствования промышленного сортимента остается актуальной.

Чаще в селекционных программах используется широкое разнообразие выделенных источников хозяйственно-биологических признаков (табл. 6).

Существующая система оценки результативности селекционного процесса ориентирована на количественные показатели выделенных источников, доноров, элит, сортов, переданных в производственное испытание, Государственное сортоиспытание и Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию.

В настоящее время в Государственном реестре селекционных достижений находятся

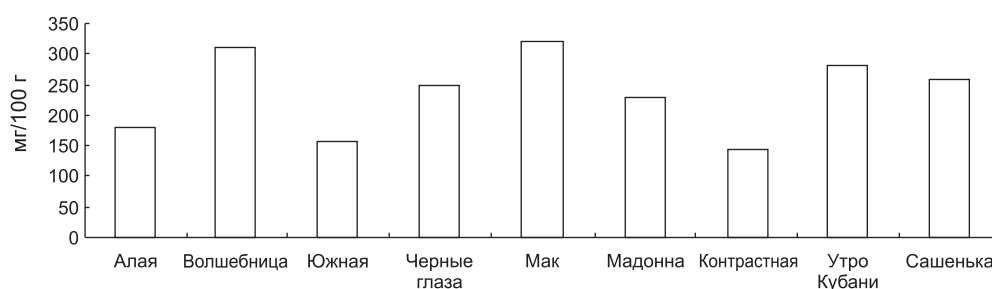


Рис. 1. Содержание общих полифенолов в плодах черешни селекции СКЗНИИСИВ, среднее 2006–2013 гг.

Таблица 5

Содержание витамина С и Р-активных веществ в плодах черешни (2006–2013 гг.)

Наименование сорта	Витамин С, мг/100 г	Р-активные вещества, мг/100 г	
		Катехины	Антоцианы
Анонс	8,6 ± 2,0	69,7 ± 12,5	184,4 ± 14,9
Василиса	8,8 ± 2,2	70,0 ± 4,4	60,0 ± 8,5
Престижная	6,0 ± 1,6	60,0 ± 3,5	174,5 ± 22,6
Алая*	10,6 ± 1,8	67,7 ± 15,5	90,4 ± 12,6
Волшебница*	8,6 ± 2,0	67,2 ± 10,4	136,5 ± 14,4
Южная*	8,8 ± 3,0	40,6 ± 3,8	98,8 ± 13,2
Черные глаза*	7,9 ± 0,9	37,8 ± 1,6	209,9 ± 21,2
Мак*	9,4 ± 3,1	74,4 ± 20,0	252,2 ± 15,5
Крупноплодная	9,4 ± 2,0	46,8 ± 9,8	200,2 ± 22,0
Мадонна*	7,0 ± 1,5	57,2 ± 3,8	177,6 ± 20,4
Кавказская*	6,4 ± 1,5	32,4 ± 4,4	204,0 ± 32,5
Кавказская улучшенная*	6,8 ± 2,3	54,0 ± 10,5	212,2 ± 11,5
Контрастная*	8,6 ± 2,0	48,0 ± 6,7	87,1 ± 14,8
Загадка	5,2 ± 0,4	54,0 ± 10,0	201,6 ± 17,9
Космическая	9,6 ± 2,5	40,4 ± 8,8	143,2 ± 16,4
Утро Кубани*	9,7 ± 2,8	60,6 ± 13,8	215,2 ± 18,8
Донецкий уголек	8,4 ± 0,8	29,2 ± 1,6	298,4 ± 24,3
Донецкая красавица	6,7 ± 2,0	77,0 ± 12,5	222,7 ± 32,3
Солнечный шар	9,5 ± 0,4	29,2 ± 2,6	Не обнаружено
Лапинс	7,7 ± 0,8	48,0 ± 14,6	153,1 ± 15,4
Сашенька*	8,4 ± 2,6	73,4 ± 12,0	155,5 ± 10,4
Среднее	7,2	47,0	192,0

Примечание. * Сорта селекции СКЗ НИИСиВ.

Таблица 6

Доноры и источники хозяйственно-биологических признаков в селекции черешни

Направления селекционных работ	Доноры и источники селекционных признаков
Зимостойкость	Дрогана желтая, Краснодарская ранняя, Рубиновая Кубани, Дар изобилия, Космическая, Валерий Чкалов, Крупноплодная, Алая, Мелитопольская черная, Волшебница, Донецкий уголек, Кавказская, Кавказская улучшенная, Краса Кубани, Сашенька, Южная
Улучшение внешнего вида, товарных качеств	Кавказская, Кавказская улучшенная, Рубиновая Кубани, Валерий Чкалов, Крупноплодная, Донецкая красавица, Южная, Краса Кубани, Гедельфинген, Францис, Донецкий уголек, Мак, Алая, Анонс, Солнечный шар, Лапинс, Загадка, Мадонна, Черные глаза, Василиса и др.
Биохимический состав плодов	Рубиновая Кубани, Волшебница, Мак, Алая, Утро Кубани, Сашенька, Космическая

12 сортов селекции СКЗНИИСиВ (Алая, Бархатная, Контрастная, Кавказская, Кавказская улучшенная, Краснодарская ранняя, Краса Кубани, Мак, Рубиновая Кубани, Сашенька, Утро Кубани, Южная), что составляет 40 % от

сорт черешни, утвержденных Госреестром в Северокавказском регионе.

Генетической особенностью этих сортов являются высокая урожайность и хорошие товарные качества плодов (рис. 2).

**Сорт Кавказская улучшенная**

Дерево сдержанной силы роста, проявляет хорошую зимостойкость и засухоустойчивость. Устойчив к основным грибным заболеваниям. Средняя урожайность 84,3 ц/га. Плоды темно-красной окраски, массой 7,0–7,8 г., созревают в конце мая.

**Сорт Алая**

Дерево среднерослое, проявляет хорошую зимостойкость, засухоустойчивость, устойчивость к основным грибным заболеваниям. Средняя урожайность 81,0 ц/га. Плоды массой 9,0–10,0 г, ярко-красной окраски, созревают в третьей декаде июня.

**Сорт Мак**

Дерево сильнорослое. Проявляет достаточно хорошую зимостойкость и засухоустойчивость. Устойчив к основным грибным заболеваниям. Средняя урожайность 81,6 ц/га. Плоды позднего срока созревания (последняя декада июня), овальной формы, темно-красной окраски, массой 8,5–9,0 г.

**Сорт Черные глаза**

Дерево сильнорослое, проявляет хорошую зимостойкость и засухоустойчивость. Средняя урожайность. Отличается средним сроком созревания плодов (середина июня), очень интенсивной окраской и крупноплодностью, масса плода 8,8–10,0 г.

Рис. 2. Новые сорта черешни селекции СКЗНИИСиб.

Государственное сортоиспытание проходят 6 новых сортов черешни селекции института (Волшебница, Красна девица, Мадонна, Лучезарная, Черные глаза, Ясно солнышко), которые служат основой для дальнейшего улучшения сортимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате настоящих исследований установлена генетическая изменчивость потомства по зимостойкости, техническим показателям и содержанию витаминов и полифенолов.

Проведенные исследования генофонда черешни по элементам зимостойкости, биохимического состава плодов и основного элемента товарности – крупноплодности позволяют рекомендовать выделенные сорта для использования в селекционных программах по созданию высококачественных сортов, адаптированных к условиям выращивания.

Указанные показатели должны сочетаться с одновременным созреванием, высокой транспортабельностью и адаптивностью плодовых деревьев к условиям произрастания.

ЛИТЕРАТУРА

- Алехина Е.М. Селекция косточковых культур. Черешня // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар, 2012. С. 313–329.
- Алехина Е.М. Актуальность селекционных исследований в совершенствовании промышленного сортимента черешни южной зоны России // Науч. тр. ГНУ СКЗНИИСиВ. Методологическое обеспечение селекции садовых культур и винограда на современном этапе. Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2013. Т. 1. С. 119–126.
- Биологические особенности и химический состав плодов черешни районированных в Краснодарском крае сортов / Т.Г. Причко, Л.Д. Чалая, Е.М. Алехина // Вестн. РАСХН. 2014. № 1. С. 62–65.
- Вишня и черешня. Создание новых сортов и доноров ценных признаков на основе идентифицированных генов плодовых растений / А.С. Жуков, Г.Г. Никифорова. Мичуринск, 2002. С. 68–89.
- Доспехов В.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1985. 350 с.
- Егоров Е.А. Актуализация приоритетов в селекции плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда для субъектов Северного Кавказа // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар, 2012. С. 3–45.
- Методические указания по определению химических веществ для оценки качества урожая овощных и плодовых культур / Сост. А.И. Ермаков, В.В. Воскресенская. Л., 1979. 101 с.
- Модифицированная методика определения общих полифенолов в плодах, ягодах и продуктах переработки / Т.Г. Причко, Л.Д. Чалая, М.Г. Германова, Т.Л. Смелик // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. С. 260.
- Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1995. 503 с.
- Пути ускорения и интенсификации селекции косточковых культур / Н.И. Туровцев, В.А. Туровцева, Н.Н. Туровцева // Новации и эффективность производственных процессов в плодоводстве. Краснодар, 2005. Т. 1. С. 88–96.
- Роль сорта в повышении эффективности садоводства и приоритетные направления селекции плодовых культур / Н.И. Савельев, А.В. Прохоров // Матер. Всесоюз. науч.-практ. конф. «Повышение эффективности садоводства в современных условиях». Мичуринск, 2003. Т. 1. С. 57–62.
- Савельев Н.И. Создание новых сортов и доноров ценных признаков. Мичуринск, 2002. 143 с.
- Седов Е.Н. Состояние и перспективы интенсификации и экологизации садоводства // С.-х. биология. 2003. № 3. С. 42–50.

DONORS OF COMMERCIALY VALUABLE TRAITS FOR SWEET CHERRY BREEDING

E.M. Alekhina, L.D. Chalaya, T.G. Prichko

North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture, Krasnodar, Russia,
e-mail: kubansad@kubannet.ru

Long-term studies of frost resistance, merchantability, and contents of biologically active compounds in new promising and recommended sweet cherry varieties grown in Krasnodar krai are reported. Frost-resistant varieties valuable for breeding are outlined. Varieties rich in biologically active compounds have been found. Their use in breeding programs will increase the pool of vitamins in fruit of new hybrid accessions.

Key words: sweet cherry, variety, genotype, commercially valuable traits, chemical composition, inheritance.

УДК 634.11:631.52:581.19

ГЕНОФОНД ЯБЛОНИ И СЕЛЕКЦИЯ НА УЛУЧШЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ

© 2014 г. **Е.Н. Седов, М.А. Макаркина, З.М. Серова**

Всероссийский НИИ селекции плодовых культур Россельхозакадемии,
Орловская область, Орловский район, д. Жилина, Россия,
e-mail: info@vniispk.ru

Поступила в редакцию 27 января 2014 г. Принята к публикации 19 августа 2014 г.

В старейшем помологическом учреждении – Всероссийском НИИ селекции плодовых культур в течение 58 лет проводилась работа по изучению биохимического состава плодов сортового фонда яблони. Изучено содержание в плодах растворимых сухих веществ; суммы сахаров, титруемых кислот, пектинов, аскорбиновой кислоты и Р-активных веществ. С 1970 г. ведется целенаправленная селекционная работа по яблоне на повышение содержания в плодах аскорбиновой кислоты. По биохимическому составу плодов изучено 265 сортов яблони генофонда ВНИИСПК, 52 сорта селекции института, 374 отборных элитных сеянца, 1400 гибридных сеянцев института. Среди сортов и гибридных сеянцев выделены источники высокого содержания в плодах ценных биохимических признаков, выявлены особенности их наследования. Созданы и включены в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию, сорта с высоким содержанием в плодах сахаров, гармоничным сочетанием сахара и кислоты, повышенным содержанием аскорбиновой кислоты и Р-активных веществ. Показано, что селекция яблони на улучшение биохимического состава плодов имеет большие перспективы, так как внедрение в производство таких сортов позволит увеличить пищевую и лечебно-профилактическую ценность плодов без дополнительных затрат невосполнимых источников энергии.

Ключевые слова: яблоня, генофонд, сорта, селекция, биохимический состав плодов.

ВВЕДЕНИЕ

Всероссийский НИИ селекции плодовых культур (ВНИИСПК) (ранее Орловская зональная плодово-ягодная опытная станция) располагает одним из самых крупных генофондов яблони в России. На протяжении десятков лет наряду с изучением многих хозяйственно ценных признаков сортов генофонда большое внимание уделялось изучению биохимического состава плодов с целью отбора лучших сортов – источников для селекции. Многолетнее изучение позволило дать биохимическую оценку плодов 265 сортам генофонда института, 374 отборным и элитным сеянцам, 52 сортам яблони селекции института. С целью изучения особенностей наследования содержания в плодах растворимых сухих веществ, суммы сахаров, титруемых кислот, пектиновых веществ, ас-

корбиновой кислоты и Р-активных веществ в течение многих лет анализировался гибридный фонд яблони в объеме 1400 сеянцев по 60 комбинациям скрещиваний (Макаркина, 2009).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все работы по селекции яблони проводились по общепринятым методикам (Программа и методика сортоизучения ..., 1973, 1999; Программа и методика селекции ..., 1980, 1995). Изучение биохимического состава плодов проводилось в лаборатории биохимической оценки сортов ВНИИСПК. Определение растворимых сухих веществ (РСВ) проводилось рефрактометрическим методом, определение сахаров – по методу Бертрана, титруемых кислот (общей кислотности) – титрованием вытяжек децинормальным раствором гидроокиси

натрия, аскорбиновой кислоты – титрованием щавелевокислых вытяжек краской Тильмана (2,6 дихлорфенолиндофенолом), Р-активных веществ – колориметрическим методом.

Объектами исследований служили сорта генофонда яблони, а также новые сорта и гибриды селекции института.

В настоящей статье приводятся 58-летние итоги исследований по биохимическому составу яблок. С 1957 г. по 1994 г. химико-технологическую лабораторию возглавляла доктор сельскохозяйственных наук З.А. Седова.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Многолетние исследования показали, что содержание растворимых сухих веществ и сахаров наследуется полигенно.

Отсутствие существенной связи между содержанием в плодах растворимых сухих веществ и сахаров, с одной стороны, и массой плодов, содержанием в них пектиновых веществ, степенью

поражения паршой листьев и плодов, с другой стороны, позволяет рассчитывать на реальную возможность создания новых сортов яблони с высокой сахаристостью плодов, крупноплодием и устойчивостью к парше (Седов и др., 2007).

Заслуживают внимания сеянцы с высоким содержанием в плодах сахаров и других ценных биохимических качеств. К таким относится сеянец 11-21-23 (Уэлси × Скрыжапель) с содержанием в плодах 13,6 % сахаров, 22,4 мг/100 г аскорбиновой кислоты и 342 мг/100 г Р-активных веществ. Есть и другие ценные сеянцы, совмещающие комплекс хозяйственных признаков.

Нами дана характеристика сортам, элитным и отборным сеянцам яблони по содержанию в плодах растворимых сухих веществ, суммы сахаров, титруемых кислот, пектинов, аскорбиновой кислоты, Р-активных веществ и по отношению сахара к кислоте (табл. 1, 2).

Как видно из данных табл. 1, значения содержания в плодах растворимых сухих ве-

Таблица 1

Характеристика сортов, элитных и отборных сеянцев яблони по содержанию в плодах растворимых сухих веществ, суммы сахаров, титруемой кислотности и отношению сахара к кислоте (по данным многолетних исследований)

Показатели	Растворимые сухие вещества, %	Сумма сахаров, %	Титруемая кислотность, %	Отношение сахара к кислоте
Плоды сортового фонда ВНИИСПК				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	12,7	10,2	0,64	16,0
Число изученных сортов (n)	264	265	265	265
Размах варьирования, min–max	9,4–18,4	7,2–13,8	0,11–1,78	6,7–39,2
Плоды сортов селекции ВНИИСПК (районированные и проходящие ГСИ)				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	12,6	10,2	0,69	15,9
Число изученных сортов (n)	52	52	52	52
Размах варьирования, min–max	10,8–14,1	8,7–12,0	0,35–1,10	9,1–30,4
Плоды отборных и элитных сеянцев селекции ВНИИСПК				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	13,2	10,4	0,67	18,7
Число изученных сортов (n)	374	264	373	264
Размах варьирования, min–max	9,7–18,4	7,0–14,0	0,08–1,43	6,1–156,3
В среднем по 3 группам сортов, элитных и отборных сеянцев				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	13,0	10,3	0,66	17,5
Число изученных сортов и сеянцев (n)	690	690	690	581
Размах варьирования, min–max	9,4–8,4	7,0–14,0	0,08–1,78	6,1–156,3

Таблица 2

Характеристика сортов, элитных и отборных сеянцев яблони по содержанию в плодах пектиновых веществ, аскорбиновой кислоты, суммы Р-активных веществ и катехинов (по данным многолетних исследований)

Показатели	Пектиновые вещества, % на сухую массу	Аскорбиновая кислота, мг/100 г	Сумма Р-активных веществ, мг/100 г	Катехины, мг/100 г
Плоды сортового фонда ВНИИСПК				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	11,3	12,2	–	123
Число изученных сортов (n)	233	264	–	240
Размах варьирования, min–max	5,1–18,0	2,2–42,7	–	18–97,4
Плоды сортов селекции ВНИИСПК (районированные и проходящие ГСИ)				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	12,6	10,8	370	162
Число изученных сортов (n)	39	52	51	52
Размах варьирования, min–max	6,4–16,9	3,5–21,4	147–639	87–228
Плоды отборных и элитных сеянцев селекции ВНИИСПК				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	–	16,1	339	167
Число изученных сортов (n)	–	342	152	178
Размах варьирования, min–max	–	2,0–57,9	72–1460	30–729
В среднем по 3 группам сортов, элитных и отборных сеянцев				
Среднее содержание ($\bar{x}$)	11,5	14,1	347	11
Число изученных сортов и сеянцев (n)	272	658	384	569
Размах варьирования, min–max	5,1–18,0	2,0–57,9	72–1460	18–974

ществ, суммы сахаров, титруемых кислот и сахарокислотный индекс (СКИ) существенно не отличались у сортов фонда яблони и сортов, созданных в институте. Наибольшие различия отмечены в содержании титруемых кислот по этим двум группам сортов. Средние значения содержания в плодах растворимых сухих веществ и сахаров у отборных и элитных сеянцев селекции ВНИИСПК выгодно отличались от первых двух групп: в них было больше растворимых сухих веществ – 13,2 % против 12,7 и 12,6 % и больше сахаров – 10,4 % против 10,2 %. У сеянцев повысился и сахаро-кислотный индекс до 18,7, в среднем с 16,0 и 15,9 – в предыдущих группах. Размах варьирования этого показателя у сеянцев значительно увеличился (6,1–156,3).

У отборных и элитных сеянцев в значительной степени повысилось среднее содержание аскорбиновой кислоты до 16,1 мг/100 г, у изученных сортов оно было 12,2 мг/100 г, а в груп-

пе сортов селекции института – 10,8 мг/100 г. Увеличилось среднее содержание катехинов (167 мг/100 г), тогда как у сортов фонда института оно было 123 мг/100 г, а у сортов института – 162 мг/100 г.

Растворимые сухие вещества (РСВ)

Анализ сортового фонда показал, что в среднем по многолетним данным из 264 сортов наибольшее количество растворимых сухих веществ в плодах было у следующих сортов: Уважаемая – 18,4 %, Помгриз – 16,8 %, Филипповка – 16,6 %, Пепин Рибстона – 15,8 %, Камышловское желтое – 15,4 %, Ренет волжский – 15,4 %, Уральский партизан – 15,8 % (Каталог сортов яблони, 1981).

Среди 52 сортов селекции ВНИИСПК более 13 % растворимых сухих веществ содержали плоды у сортов: Августа, Афродита, Веньяминовское, Дарёна, Ивановское, Курнаковское,

Память воину, Радость Надежды, Строевское, Старт.

Из 374 отборных и элитных сеянцев наибольшее количество растворимых сухих веществ в плодах содержалось у сеянцев: 12-22-59 (Оранжевое × Антоновка обыкновенная), 13-84-66 и 13-84-80 (Антоновка новая × Несравненное) – 17,5 %, 21-39-69 [Бабушкино × 13-84-80 (Антоновка новая × Несравненное)] – 17,6 %, 13-83-50 (Антоновка новая × Несравненное) – 18,0 %, 14-33-18 (Антоновка обыкновенная × Мекинтош) – 18,4 %.

Сумма сахаров

По сумме сахаров в плодах 265 сортов фонда института размах варьирования был от 7,2 до 13,8 %.

Более 13 % сахаров содержалось в плодах сортов: Помгриз – 13,8 %, Уважаемая – 13,5 %, Филипповка – 13,4 %, Ренет волжский – 13,1 %.

Среди сортов селекции ВНИИСПК содержание суммы сахаров варьировало от 8,7 до 12,0 %. Лучшие по высокому содержанию сахаров выделились сорта Ивановское – 11,8 %, Олимпийское и Старт – оба 10,9 %, Курнаковское и Орлик – 10,8 %, Яблочный Спас – 10,2 %.

Среди отборных и элитных сеянцев селекции ВНИИСПК размах варьирования по содержанию сахаров в плодах был наибольшим – 7,0–14,0 %. Лучшими по этому признаку оказались сеянцы 23-16-116 (814 – свободное опыление) – 14,0 %, 22-27-125 (Уэлси × OR38T17) – 13,7 %, 23-16-120 (814 – свободное опыление) и 22-27-133 (Уэлси × OR38T17) – 13,5 %. Выделенные нами сорта и сеянцы всех трех групп с высоким содержанием растворимых сухих веществ и сахаров служат источниками в селекции на повышенное содержание этих признаков.

Титруемые кислоты

В плодах сортового фонда института содержится от 0,11 до 1,78 % титруемых кислот. Мало титруемых кислот было в плодах сортов: Новогородчина – 0,11 %, Медуница – 0,12 %, Мирончик – 0,14 %, Несравненное – 0,15 %, Медок – 0,16 %, Антоновка сладкая – 0,19 %. Высококислые плоды были у сортов: Уважаемая – 1,78 %, Багрянка новая – 1,32 %, Камыш-

ловское желтое и Самоцвет – 1,26 %, Желтое наливное – 1,16 %.

Анализ гибридного потомства показал, что по содержанию в плодах титруемых кислот в ряде семей наблюдались положительные доминирование и сверхдоминирование (положительный гетерозис).

Отношение сахара к кислоте (СКИ)

Отношение сахара к кислоте, или сахарокислотный индекс, во многом определяет вкус плодов. При высокой кислотности или низком содержании сахаров СКИ составляет иногда около 10. При этом плоды на дегустациях получают, как правило, низкую оценку. Обычно высокую дегустационную оценку получают плоды с СКИ от 15 до 30. Среди сортов генофонда института с плодами высоких вкусовых качеств выделяются: Память воину – 29,1, Спартан – 27,4, Лобо – 26,8, Мекинтош – 22,8, Помон-китайка – 20,1. Гомозиготно сладкие сорта яблони обычно имеют пресный или пресно-сладкий вкус. Сеянцы такого типа обычно бракуются. В связи с этим наиболее перспективны скрещивания между собой гомозиготно кислых и гомозиготно сладких сортов (МаМа × мама). При таком скрещивании все сеянцы будут гетерозиготны и не будут браковаться за пресный или пресно-сладкий вкус (Brown, Harvey, 1971).

В плодах сортового фонда института СКИ изменялся от 6,7 (Уралочка) до 39,2 (Зимнее душистое). Высокий СКИ имели такие сорта: Кандиль северный – 39,0, Старкримсон, Хьюм – 32,5, Феймез – 28,3.

Пектиновые вещества

Установлена важная роль пектина в питании человека. Образуя коллоидные растворы, пектиновые вещества проявляют обволакивающее действие. Благодаря этому они способствуют локализации и заживлению язвенных поражений желудка и кишечника. Пектиновые вещества также нейтрализуют и удаляют из организма свинец, цинк, медь и другие тяжелые металлы.

Из сортового фонда института высоким содержанием пектина в плодах выделяются сорта:

Королева Кавказа – 18,0 %, Лозовка – 17,5 %, Богдан Хмельницкий – 16,1 %, Ред Мелба – 15,2 %, Борсдорф-китайка – 15,1 %.

Из сортов селекции ВНИИСПК наиболее высоким содержанием в плодах пектина характеризуются: Болотовское – 16,9 %, Славянин – 16,7 %, Памяти Хитрово – 15,6 %, Здоровье – 15,5 %, Орловский пионер – 14,8 %, Рождественское – 14,4 %.

Аскорбиновая кислота (витамин С)

Аскорбиновая кислота участвует в окислительно-восстановительных процессах, проходящих в организме человека. Недостаток аскорбиновой кислоты приводит к нарушению нормальной жизнедеятельности организма, снижается работоспособность и устойчивость к инфекционным заболеваниям, развивается сердечная слабость, появляется утомляемость, одышка, нарушается образование некоторых гормонов, регулирующих обменные процессы. Аскорбиновая кислота положительно влияет на функциональную деятельность печени, обладает способностью обезвреживать токсины и даже химические и промышленные яды. Организм человека не способен синтезировать аскорбиновую кислоту и должен получать ее в готовом виде с пищей (Смирнова, 1970; Метлицкий, 1976 и др.). Аскорбиновая кислота усиливает терапевтические свойства антибиотиков (Рысс, 1963; Полинг, 1975; Метлицкий, 1976; Вигоров, 1979 и др.).

Среди сортов сортового фонда института размах варьирования по содержанию аскорбиновой кислоты в плодах был 2,2–42,7 мг/100 г. Высоким содержанием аскорбиновой кислоты в плодах отличались: Зимнее Плесецкого – 42,7 мг/100 г, Трудовое – 38,1 мг/100 г, Россиянка – 37,4 мг/100 г, Ренет Фрома золотой – 31,5 мг/100 г, Кулон-китайка – 29,3 мг/100 г, Несравненное – 27,1 мг/100 г, Бабушкино – 24,6 мг/100 г, Ренет Черненко – 23,8 мг/100 г.

Целенаправленная крупномасштабная селекция яблони на повышенное содержание аскорбиновой кислоты в плодах ведется во ВНИИСПК с 1970 г. За более чем 40-летний период по этому направлению селекции осуществлена 321 комбинация скрещиваний, опылено 450 тыс. цветков, получено 215,3 тыс. нормаль-

но развитых семян, что составляет около 48 семян на каждые 100 опыленных цветков. Выращено 98 тыс. однолетних сеянцев, или 45,5 % от посеянных семян. После многократных браковок гибридных сеянцев по культурности, устойчивости к низким температурам и болезням в селекционные сады перенесено путем пересадки и прививки в крону 15–18-летних деревьев-скелетообразователей 19,1 тыс. сеянцев, что составляет около 19,5 % от выращенных в селекционной школке (табл. 3).

Наиболее высоким содержанием аскорбиновой кислоты в плодах среди сортов селекции ВНИИСПК выделялись: Вита – 21,4 мг/100 г, Ивановское – 19,5 мг/100 г, Ветеран – 19,4 мг/100 г, Низкорослое – 18,0 мг/100 г, Куликовское и Пепин орловский – 15,3 мг/100 г, Орловский пионер – 14,8 мг/100 г.

Высокое содержание в плодах аскорбиновой кислоты имели некоторые отборные и элитные сеянцы: 13-13-143 (Антоновка новая × Несравненное) – 57,9 мг/100 г; 21-46-55 [(Анис пурпуровый × Несравненное) × 13-62-73 (Антоновка обыкновенная × Ренет Фрома золотой)] – 53,8 мг/100 г; 13-83-88 (Антоновка обыкновенная × Несравненное) – 49,8 мг/100 г; 21-39-69 [Бабушкино × 13-84-80 (Антоновка новая × Несравненное)] – 46,4 мг/100 г; 13-52-23 (Несравненное – свободное опыление) – 46,2 мг/100 г.

Многие из перечисленных сортов, отборных и элитных сеянцев с высоким содержанием аскорбиновой кислоты в плодах обладают комплексом других ценных хозяйственных признаков и представляют большой интерес как исходные формы для дальнейшей селекции (Седов, Седова, 1982; Седов, 2011).

Выявленная нами слабая связь или ее отсутствие между содержанием в плодах аскорбиновой кислоты и степенью поражения паршой листьев и плодов дают основание считать возможным создавать новые сорта, совмещающие высокую витаминность и устойчивость к парше.

К сожалению, создание сортов с высоким содержанием аскорбиновой кислоты в плодах оказалось задачей далеко не простой и не легкой. Несмотря на более 40-летний период упорной селекционной работы и создание крупного гибридного фонда, нам не удалось создать сорта яблони с содержанием в плодах 30 мг/100 г АК, как намечалось селекционным заданием. При

Таблица 3

Объем работы по селекции яблони
на повышенное содержание в плодах аскорбиновой кислоты

Годы скрещиваний	Комбинаций скрещиваний	Опылено цветков, шт.	Получено семян, шт.	Выращено однолетних сеянцев, шт.	Перенесено в сад, шт.
1970–1980	100	186766	72374	21188	10148
1981–1990	123	140844	79218	48950	6593
1991–2000	63	74740	23468	18098	1832
2001–2010	33	44980	38870	9794	529
2011	1	1060	35	5	–
2013	1	1600	1290	–	–
1970–2013	321	449990	215255	98035	19102

создании сортов с повышенным содержанием аскорбиновой кислоты в плодах некоторый оптимизм дает новый этап в селекции, который связан с целенаправленными ступенчатыми (сложными) скрещиваниями, когда лучшие по витаминности сеянцы от простых скрещиваний используются в гибридизации между собой или с высоковитаминными сортами (Седов и др., 1991; Седов и др., 1998).

Р-активные вещества (витамин Р)

Основными представителями Р-активных веществ являются флавоноиды (катехины, лейкоантоцианы, флавонолы, антоцианы и сополимеризованные формы этих соединений).

В яблоках из перечисленной группы в основном содержатся бесцветные катехины и лейкоантоцианы (Седов и др., 2007).

Р-активные вещества, особенно в сочетании с аскорбиновой кислотой, уменьшают проницаемость и ломкость капилляров, улучшают внутритканное дыхание, совместно с аскорбиновой кислотой участвуют в окислительно-восстановительных процессах. Они предохраняют от окисления аскорбиновую кислоту. Повышенное потребление яблок приводит к сокращению многих хронических заболеваний в результате противовоспалительной активности полифенолов, присутствующих в плодах. Действие Р-активных веществ на сердечно-сосудистую систему выражается в улучшении кровообращения и тонуса сердца, предупреждении атеросклероза.

В плодах сортового фонда яблони института изучались в основном катехины. Наибольшее содержание катехинов в плодах генофонда яблони института содержали сорта: Томич – 974 мг/100 г, Камышловское желтое – 826 мг/100 г, Уважаемая – 744 мг/100 г, Багрянкa новая – 582 мг/100 г, Желтое наливное – 533 мг/100 г.

Сорта яблони селекции ВНИИСПК не отличались слишком высоким содержанием в плодах катехинов, но некоторые из них выделяются по сумме Р-активных веществ: Радость Надежды – 639 мг/100 г, Кандиль орловский – 558 мг/100 г, Орловский пионер – 514 мг/100 г, Августа – 502 мг/100 г, Рождественское – 495 мг/100 г, Яблочный Спас – 481 мг/100 г, Болотовское – 477 мг/100 г, Память Семакину – 474 мг/110 г, Афродита – 464 мг/100 г.

Из гибридного фонда отобрано 29 отборных и элитных сеянцев с содержанием в плодах Р-активных веществ более 450 мг/100 г. Очень высоким содержанием суммы Р-активных веществ в плодах выделяются некоторые гибридные сеянцы: 18-36-135 [Бабушкино × 12-19-47 (неизвестный сеянец × Несравненное)] – 1460 мг/100 г; 18-31-26 [Ренет Черненко × 12-16-84 (Прогресс × 292-134)] – 668 мг/100 г; 16-37-61 (Антоновка краснoбoчка × SR0523) – 667 мг/100 г; 18-1-123 (Антоновка обыкновенная × OR48T47) – 642 мг/100 г; 23-12-29 (814 – свободное опыление) – 636 мг/100 г.

Итак, в результате многолетней селекционной работы на улучшение биохимического состава плодов созданы сорта яблони с сравнительно высоким содержанием в плодах

сахаров: Спасское – 11,9 %, Ивановское – 10,8 %, Олимпийское – 10,9 %, Орлик и Курнаковское – 10,8 %, Памяти Хитрово – 10,6 %; с содержанием в плодах пектинов более 14 %: Кандиль орловский, Курнаковское, Рождественское, Памяти Хитрово, Болотовское и др.; с содержанием в плодах более 15 мг/100 г аскорбиновой кислоты: Куликовское, Масловское, Ветеран, Ивановское, Олимпийское, Зарянка и др. Почти все сорта селекции ВНИИСПК отвечают требованиям, предъявляемым к новым сортам по содержанию в плодах общего количества Р-активных веществ, и превосходят по данному признаку контрольные широко распространенные сорта Северный синап – 137 мг/100 г, Осеннее полосатое – 248 мг/100 г, Папировка – 252 мг/100 г, Антоновка обыкновенная – 340 мг/100 г. Лучшие, включенные в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию, сорта селекции ВНИИСПК содержат следующее количество Р-активных веществ в плодах: Афродита – 464 мг/100 г, Память Семакину – 474 мг/100 г, Болотовское – 477 мг/100 г, Рождественское – 495 мг/100 г, Августа – 502 мг/100 г, Кандиль орловский – 558 мг/100 г, Радость Надежды – 639 мг/100 г.

Особый интерес представляет гибридный сеянец 18-36-135 из семьи [Бабушкино × 12-19-47 (неизвестный сеянец × Несравненное)], который содержит в плодах 1460 мг/100 г Р-активных веществ.

Приведенные сведения свидетельствуют о большой перспективности селекции яблони на улучшение биохимического состава плодов. Созданные сорта и формы с богатым содержанием питательных и биологически активных веществ в плодах являются ценными источниками для продолжения селекции в этом направлении.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-16-00127.

ЛИТЕРАТУРА

- Вигоров Л.И. Сад лечебных культур. Свердловск: Среднеуральск. кн. изд-во, 1979. 175 с.
- Каталог сортов яблони / Под ред. Е.Н. Седова. Орел: Орловск. отд-ние Приокск. кн. изд-ва, 1981. 287 с.
- Макаркина М.А. Селекция яблони и смородины красной на улучшение химического состава плодов: 06.01.05 «Селекция и семеноводство»: Автореф. ... д-ра с.-х. наук. Брянск: Брянская ГСХА, 2009. 50 с.
- Метлицкий Л.В. Основы биохимии плодов и овощей. М.: Экономика, 1976. 349 с.
- Полинг Л. Витамин С и здоровье. М.: Наука, 1975. 79 с.
- Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Г.А. Лобанова. Мичуринск, 1980. 407 с.
- Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Е.Н. Седова. Орел: ВНИИСПК, 1995. 503 с.
- Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Г.А. Лобанова. Мичуринск, 1973. 192 с.
- Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. Орел: ВНИИСПК, 1999. 608 с.
- Рысс С.М. Витамины. Л.: Гос. Изд-во мед. лит-ры, 1963. 376 с.
- Седов Е.Н. Селекция и новые сорта яблони. Орел: ВНИИСПК, 2011. 624 с.
- Седов Е.Н., Макаркина М.А., Левгерова Н.С. Биохимическая и технологическая характеристика плодов генофонда яблони. Орел: ВНИИСПК, 2007. 310 с.
- Седов Е.Н., Седова З.А. Селекция яблони на улучшение химического состава плодов. Орел: Орловск. отд-ние Приокск. кн. изд-ва, 1982. 120 с.
- Седов Е.Н., Седова З.А., Курашев О.В., Соколова С.Е. Роль ступенчатых скрещиваний в селекции яблони на повышенное содержание аскорбиновой кислоты в плодах // Вестн. с.-х. науки. 1991. № 9. С. 140–145.
- Седов Е.Н., Седова З.А., Соколова С.Е. Ступенчатые скрещивания в селекции яблони на повышенное содержание аскорбиновой кислоты в плодах // Селекция и сорторазведение садовых культур. Орел: ВНИИСПК, 1998. С. 53–59.
- Смирнова Г.А. Основы биохимии. М.: Высш. шк., 1970. 320 с.
- Brown A.G., Harvey D.M. The nature and inheritance of sweetness and acidity in the cultivated apple // Euphytica. 1971. V. 20. No. 1. P. 68–80.

APPLE VARIETAL POOL AND BREEDING FOR THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF FRUIT

E.N. Sedov, M.A. Makarkina, Z.M. Serova

All-Russia Research Institute for Fruit Crop Breeding, Zhilina Village, Orel oblast, Russia,
e-mail: info@vniispk.ru

Summary

Fruit biochemical composition of the apple varietal pool was being studied for 58 years in the oldest pomological institution All Russia Research Institute for Fruit Crop Breeding. Contents of soluble dry matter, total sugar, titratable acids, pectin, ascorbic acid, and P-active substances have been studied. Directed apple breeding for higher content of ascorbic acid in fruit has been carried out since 1970. Biochemical compositions have been studied in 265 apple varieties from the Institute collection, 52 varieties raised at the Institute, and 1400 hybrid seedlings, including 373 selected elite ones. Sources of high contents of biochemically valuable substances and features of their inheritance have been determined amongst the apple varieties and hybrid seedlings. Varieties with high contents of sugars, ascorbic acid, and P-active substances in fruit, as well as with best sugar and acid proportions have been developed and included in the State Register of Breeding Achievements Recommended for Use. It is shown that apple breeding for fruit biochemical composition improvement has great prospects, since the introduction of such varieties would allow increasing the nourishing and preventive value of fruit without additional consumption of nonrenewable energy sources.

Key words: apple, gene pool, varieties, breeding, biochemical composition of fruit.

УДК 633.111.1

НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ СОРТОВ РАСТЕНИЙ

© 2014 г. В.Г. Потанин¹, А.Ф. Алейников¹, П.И. Стёпочкин²

¹ Государственное научное учреждение
Сибирский физико-технический институт аграрных проблем;
Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск, Россия,
e-mail: wgp@ngs.ru;

² Государственное научное учреждение
Сибирский институт растениеводства и селекции,
пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия

Поступила в редакцию 19 мая 2014 г. Принята к публикации 28 августа 2014 г.

В статье рассматриваются вопросы совершенствования оценки экологической пластичности сортов и линий. Показана рациональность перехода к использованию предложенного показателя стабильности сорта. Приведен окончательный вариант аналитического выражения показателя стабильности для его практического применения, а также его некоторые типичные значения для сибирских условий.

Ключевые слова: зерновые культуры, системный анализ, селекция, экологическая пластичность, факторы, среда.

Увеличение потенциала урожайности всегда было и остается фундаментально важным в селекционных программах. Но современные сорта должны быть не только высокоурожайными, дающими продукцию высокого качества, но и устойчивыми к неблагоприятным факторам среды, т. е. высокоадаптированными, высокогомеостатичными (Щербаков, 1981). Только высокая адаптивность сорта (обусловленная гомеостатичностью его генотипа) может обеспечить стабильность урожая в различных экологических условиях (Хангильдин, 1979). Селекция на повышенный гомеостаз имеет особое значение для регионов с недостаточным увлажнением, каковыми являются южная лесостепь и степь Западной Сибири. Направленность селекции на устойчивость к неблагоприятным факторам среды, особенно к засухе, предполагает комплексную оценку селекционного материала с ранних этапов селекции (Зыкин и др., 2011).

Для оценки сорта с точки зрения его соответствия условиям выращивания и непосредственной реакции на эти условия было предложено использовать такие характеристики, как

пластичность и стабильности сорта (как меру онтогенетической адаптивности и гомеостатичности растений).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для практического использования таких оценок были предложены различные количественные методы расчета экологической пластичности сортов культивируемых растений, среди которых следует отметить методы, предложенные Р.А. Удачным (Удачин, Головоченко, 1990), С. Эберхартом и В. Расселом (Eberhart, Russel, 1966), Г. Тайем (Tai, 1971), С.П. Мартыновым (1989) и др. Сравнительные характеристики данных методов приведены в табл. 1.

Методика, разработанная Р.А. Удачным (Удачин, Головоченко, 1990), позволяет проводить оценку экологической пластичности образцов на разных этапах селекционного процесса при испытании их минимум на двух агрофонах методом случайных повторений. Для этого используются показатели интенсивности и устойчивости индекса стабильности. Предлагаемая

Таблица 1

Сравнение методов расчета экологической пластичности

Метод	Основные параметры	Достоинства	Недостатки
1. С. Эберхарта и В. Рассела	Коэффициент линейной регрессии b_i отражает отклик генотипа на изменение условий выращивания. Дисперсия отклонения от линии регрессии S^2d_i характеризует стабильность сорта в различных условиях среды	Широкая распространенность метода и использование интегральной оценки среды, осуществляемой по урожайности. Универсальность используемого подхода	Необходимость большого набора сортов и длительности обследования. Трудности сопоставления результатов расчета с подобными результатами других исследователей. Невозможность оценить тенденцию формирования пластичности на стадии селекции сорта
2. Г. Тая	Эффект взаимодействия «генотип–среда» рассматривается как два компонента: линейный отклик на средовые эффекты, α и отклонение от линейного отклика, λ . Показатели α и λ имеют определенную связь с параметрами b_i и S^2d_i , рассчитываемыми по методу Эберхарта и Рассела	Взаимосвязь с параметрами метода Эберхарта и Рассела определяет аналогичность достоинств метода по Таю. Но возможность распределения исходных сортов на три группы расширяет перечень достоинств	Аналогичность недостатков, свойственных методу Эберхарта и Рассела
3. С.П. Мартынова	Имеет сходство с методом Эберхарта и Рассела, но в отличие от него индекс среды рассчитывается на основе урожайности различных участков и группируется с учетом границ доверительного интервала по трем группам. Для каждой группы определяется весовой коэффициент W_j , который используется для оценки меры стабильности сорта H_i	Использование активного эксперимента. Возможность, хоть и с определенными ограничениями, оценивать тенденцию формирования пластичности у разрабатываемого сорта. Наличие большего количества градаций в выходном показателе – мера стабильности (3 градации)	Оценивается только стабильность сорта. Требование большого количества сортов и участков для экспериментального исследования. Использование для расчетных оценок индекса среды ведет к аналогичным недостаткам, как и в двух предыдущих методах
4. Р.А. Удачина	Реакция сортов и линий на благоприятный фон оценивается через показатель ее интенсивности. Для вычисления показателя стабильности как одной из сторон приспособительной реакции сорта используется изменчивость индекса стабильности (ИС), который введен Р.А. Хангильдиным	Позволяет проводить оценку экологической пластичности образцов на разных этапах селекционного процесса. Используется активный эксперимент. Состояние среды оценивается по известным физическим параметрам. Получаемые результаты можно сопоставлять с результатами других исследований. Относительно небольшие экономические и трудовые затраты	Большая степень свободы в выборе оптимального и лимитированного фонов. Наиболее слабым местом является переход от индекса стабильности, предложенного Хангильдиным, к показателю устойчивости индекса стабильности

работа имеет теоретическую направленность и посвящена совершенствованию методики, предложенной Р.А. Удачным.

Согласно методике Р.А. Удачина, реакция сортов и линий на благоприятный фон оценивается через показатель интенсивности:

$$И = \bar{X}_{\text{опт}} - \bar{X}_{\text{лим}} / X_{\text{ср}} \times 100(\%), \quad (1)$$

где $X_{\text{ср}}$ – среднее значение урожайности у набора сортов на всех фонах испытания, или обобщенный индекс среды; $\bar{X}_{\text{опт}}$, $\bar{X}_{\text{лим}}$ – средние значения урожайности изучаемого сорта на оптимальном и лимитированном фонах.

Свойство стабильности как одной из сторон приспособительной реакции сорта предлагается оценивать изменчивостью индекса стабильности на контрастных фонах. Чем меньше он варьирует, тем более стабилен сорт по урожайности. Поэтому для каждого сорта рассчитывается показатель устойчивости индекса стабильности.

$$У = \left[1 - \frac{ИС_{\text{опт}} - ИС_{\text{лим}}}{ИС_{\text{ср}}} \right] \times 100 \%, \quad (2)$$

где $У$ – показатель устойчивости индекса стабильности; $ИС_{\text{ср}}$ – среднее значение индекса стабильности у набора сортов на всех фонах испытания; $ИС_{\text{опт}}$, $ИС_{\text{лим}}$ – индексы стабильности сортов на оптимальном и лимитированном фонах.

Входящий в состав формулы (2) индекс стабильности – $ИС$ ($ИС_{\text{опт}}$, $ИС_{\text{лим}}$) введен Р.А. Хангильдиным и характеризуется следующим выражением:

$$ИС = \bar{X}^2 / S, \quad (3)$$

где $\bar{X}$ – средняя величина урожайности сорта в определенных условиях, S – среднее квадратическое отклонение урожайности сорта в опыте (в последующих выражениях под данными символами обозначаются те же переменные, что и в формуле (3)).

Этот индекс Р.А. Удачин считает важной характеристикой сорта, а Э.Д. Неттевич подчеркивает, что сорта с большим индексом могут быть представлены как более стабильные, т. е. более приспособленные к данным условиям.

В качестве обоснования необходимости введения нового показателя для оценки стабильности сорта Р.А. Удачин отмечает следующее. Индекс стабильности объединяет информацию о генетических свойствах сорта и погрешность опыта. При уменьшении погрешности опыта

индекс стремится к большой величине (теоретически к ∞). Это, с одной стороны, создает неудобство его использования, а с другой – отражает значительную вариабельность индекса без определенной связи с урожайностью.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Рассмотрим более подробно рациональность перехода от индекса стабильности, предложенного Хангильдиным (формула 3), к показателю устойчивости индекса стабильности (выражение 2). Приведем для сравнения ранжированные значения обоих индексов стабильности (табл. 2), используя для этого данные из статьи Р.А. Удачина «Методика оценки экологической пластичности сортов пшеницы» (Удачин, Головоченко, 1990).

Столь значительное расхождение показателей стабильности приводит к выводу, что какой-то из показателей не соответствует действительности. Если признать, что таковым является показатель, введенный Хангильдиным («ИС»), то и показатель, введенный Удачным («У»), также плохо отражает действительность, так как в основе его построения лежит показатель Хангильдина.

Обозначим важнейший информационный элемент показателя устойчивости ($ИС_{\text{опт}} - ИС_{\text{лим}}$) через $\Delta ИС$. Далее рассмотрим $ИС_{\text{ср}}$ с использованием $\Delta ИС$ и соответствующего равенства $ИС_{\text{опт}} = ИС_{\text{лим}} + \Delta ИС$.

$$ИС_{\text{ср}} = \frac{ИС_{\text{лим}} + ИС_{\text{опт}}}{2} = \frac{ИС_{\text{лим}} + ИС_{\text{опт}} + \Delta ИС}{2}$$

$$\text{или } ИС_{\text{ср}} = ИС_{\text{лим}} + \frac{\Delta ИС}{2}. \quad (4)$$

Таблица 2

Ранжированные значения показателей стабильности

Сорт	Ранг по «ИС _{ср} » (по Хангильдину)	Ранг по «У» (по Удачину)
Эритроспермум	5	3
Саратовская 29	2	1
Кутулукская	1	5
Nadadores	3	4
Лютесценс 62	4	2

Средний индекс стабильности представлен двумя слагаемыми (выражение (4)), из которых первое слагаемое можно рассматривать как базовую, а второе слагаемое – как динамическую составляющие. Кроме того, второе слагаемое является важным информационным элементом показателя устойчивости («ДИС» с коэффициентом 0,5). То есть средний индекс стабильности уже содержит информацию показателя устойчивости. Причем в подавляющем большинстве случаев второе слагаемое по своей величине значительно уступает первому. Таким образом, средний индекс стабильности является более информативным, а значит и более предпочтительным для оценки стабильности сорта.

Исходя из изложенного, решено усовершенствовать методику в отношении показателя стабильности. Для этого предлагается за основу взять непосредственно индекс стабильности («ИС»). Для исключения недостатка, отмеченного Р.А. Удачным, в виде стремления «ИС» к бесконечности или очень большим величинам рассчитывается его относительная величина. В качестве максимального значения «ИС» предлагается использовать такое его значение, при котором коэффициент вариации (в относительном представлении) составляет, например, 2 %. А входящая в состав формулы урожайность ($\bar{X}$) приравнивается к потенциальной урожайности для территории России.

Величина среднеквадратического отклонения урожайности при ситуации, когда коэффициент вариации равен 2 %, составляет:

$$S = 0,02 \bar{X}. \quad (5)$$

Потенциальная урожайность для территории РФ, по разным литературным источникам, составляет от 90 до 110 ц/га. Исходя из этого, предлагается выбрать ее среднее значение (для расчетов по стабильности сорта) – 100 ц/га.

Тогда IS_{max} будет равняться:

$$IS_{max} = \frac{\bar{X}_p^2}{S} = \frac{\bar{X}_p^2}{0,02 \bar{X}_p} = \frac{\bar{X}_p}{0,02} = 5000 \text{ (ц/га)}, \quad (6)$$

где $\bar{X}_p$ – потенциальная урожайность для России.

При этом относительный индекс стабильности (в процентах):

$$IS_{отн} = \frac{\bar{X}^2 \times 100}{S \times 5000}. \quad (7)$$

Рассмотрим для примера некоторые расчетные значения. При распространенных величинах урожайности в 30 ц/га и среднеквадратического отклонения урожайности в размере 1,8 ц/га индекс стабильности $IS_{отн}$ составит 10 %. А для урожайности в 40 ц/га и такой же величины среднеквадратического отклонения этот индекс $IS_{отн}$ вырастет до 17,8 %. Относительный индекс стабильности имеет явно выраженную нелинейность возрастающего характера (так же, как и его безотносительный показатель ИС). Подобное свойство достаточно логично, так как достижение более высоких уровней стабильности связано с возрастающими по уровню затратами, т. е. увеличение данного индекса достигается все с большим трудом.

Для оценки стабильности сорта предлагается применять средний относительный индекс стабильности ($IS_{отн_cp}$):

$$IS_{отн_cp} = \frac{IS_{отн_опт} - IS_{отн_лим}}{2}. \quad (8)$$

При этом устойчивость («У») также может дополнительно использоваться как показатель, характеризующий определенные свойства стабильности сорта. Например, зависимость стабильности урожайности сорта от неоднородности почв. То есть при высоком значении показателя $IS_{отн_cp}$ и при невысокой величине показателя «У» следует придерживаться некоторого ограничения при использовании данного сорта в регионах со значительным различием в плодородии почв. В зависимости от конкретного соотношения этих показателей (при большом их различии) рационально применять сорт на части региона с меньшим варьированием почвенного состава.

Работа по совершенствованию методики оценки экологической пластичности выполнялась в рамках проводимого в СибФТИ исследования, направленного на разработку вариантов системы информационно-аналитического обеспечения селекционного процесса культуры тритикале (Grebennikova *et al.*, 2011). Для повышения эффективности селекционного процесса при создании сортов, обладающих требуемым сочетанием хозяйственно важных признаков и высокой экологической адаптивностью, необходим поиск более совершенных, а иногда и нетрадиционных подходов к обработке ин-

формации селекционного процесса. В рамках выполняемого исследования (при создании гибридов тритикале по полной диаллельной схеме) осуществлялись совершенствование и отработка выше отмеченных методических приемов по экологической пластичности (Алейников и др., 2011, 2013). В дальнейшем планируется расширить информационные возможности показателя интенсивности, введенного Р.А. Удачиним.

ЛИТЕРАТУРА

Алейников А.Ф., Стёпочкин П.И., Гребенникова И.Г. Диаллельный анализ селекции сельскохозяйственных культур: Свидетельство № 2011613440 о регистрации программы для ЭВМ. М.: ФИПС, 2011. 1 с.
Алейников А.Ф., Стёпочкин П.И., Гребенникова И.Г., Чешкова А.Ф. Компьютерная программа «Анализ экологической пластичности сельскохозяйственных культур»: Свидетельство № 2013611494 об официальной регистрации программы для ЭВМ. М.: ФИПС, 2013. 1 с.
Зыкин В.А., Белан И.А., Юсов В.С., Кираев Р.С., Чаны-

шев И.О. Экологическая пластичность сельскохозяйственных растений. Уфа, 2011. 97 с.

Мартынов С.П. Оценка экологической пластичности сортов сельскохозяйственных культур // С.-х. биология. 1989. № 3. С. 124–128.

Удачин Р.А., Головаченко А.П. Методика оценки экологической пластичности сортов пшеницы // Селекция и семеноводство. 1990. № 5. С. 2–6.

Хангильдин В.В. Гомеостаз компонентов урожая зерна и предпосылки к созданию модели сорта яровой пшеницы // Генетический анализ количественных признаков растений. Уфа: БФ АН СССР, 1979. С. 5–39.

Щербаков В.К. Эволюционно-генетическая теория биологических систем: гомеостаз, значение для развития теории селекции // Вестн. с.-х. науки. 1981. № 3. С. 56–67.

Eberhart S.A., Russel W.A. Stability parameters for comparing varieties // Crop Sci. 1966. V. 6. No. 1. P. 36–40.

Tai G.C.C. Genotypic stability analysis and application to Potato Regional Trials // Crop Sci. 1971. V. 11. No. 2. P. 184–190.

Grebennikova I.G., Aleynikov A.F., Stepochkin P.I. Diallel analysis of the number of spikelets per spike in spring Triticale // Bulgarian J. Agric. Sci. 2011. V. 17. No. 6. P. 755–759.

A NEW APPROACH TO ESTIMATION OF THE ECOLOGICAL PLASTICITY OF PLANT VARIETIES

W.G. Potanin¹, A.F. Aleinikov¹, P.I. Stepochkin²

¹ Siberian Physical-Technical Institute of Agrarian Problems,
Krasnoobsk, Novosibirsk oblast, Russia;

² Siberian Research Institute of Plant Industry and Breeding,
Krasnoobsk, Novosibirsk oblast, Russia

Summary

Problems of the improvement of estimation of the environmental plasticity of varieties and lines are considered. It is recommended to apply the proposed variety stability index. A final version of the analytical expression of the index for practical application is presented, as well as its typical values for Siberia.

Key words: grain crops, system analysis, breeding, plasticity, factors, environment.

УДК 547.458.8

ОСОБЕННОСТИ ЦЕЛЛЮЛОЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЧАСТЕЙ МИСКАНТУСА СОРТА СОРАНОВСКИЙ

© 2014 г. Ю.А. Гисматулина¹, В.В. Будаева¹, С.Г. Вепрев²,
Г.В. Сакович¹, В.К. Шумный²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем химико-энергетических технологий
Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия,
e-mail: ipcet@mail.ru, julja.gismatulina@rambler.ru;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия,
e-mail: shumny@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 11 марта 2014 г. Принята к публикации 13 августа 2014 г.

Определен химический состав мискантуса (*Miscanthus sinensis* Andersson) сорта Сорановский двух урожаев 2011 и 2012 гг.: растения в целом, листа и стебля отдельно. Установлено, что в обоих случаях целлюлоза преобладает в стебле мискантуса, а нецеллюлозные компоненты (жировосковая фракция, зола, лигнин) – в листе. Впервые получены образцы целлюлозы из листа и стебля мискантуса отдельно двумя способами (азотнокислым и комбинированным). Установлено, что наиболее качественная целлюлоза получается из стебля. Так, целлюлоза, полученная из стебля азотнокислым способом, обладает лучшим качеством, чем целлюлоза из листа, что выражается в высоких значениях содержания α -целлюлозы (94,4 % против 91,7 %) и степени полимеризации (800 против 580), а также в низких значениях массовых долей нецеллюлозных компонентов: зола (0,07 % против 1,01 %), кислотонерастворимый лигнин (0,45 % против 1,51 %). Прослеживается та же закономерность с целлюлозами, полученными комбинированным способом: целлюлоза из стебля характеризуется более высоким качеством, чем из листа, а именно: высокие значения степени полимеризации (1 040 против 640) и низкие массовые доли нецеллюлозных компонентов: зола (0,14 % против 0,75 %), кислотонерастворимый лигнин (0,88 % против 4,12 %), пентозаны (6,38 % против 8,53 %). Очевидно, что целлюлоза, полученная азотнокислым способом, может быть пригодной для химических модификаций, в том числе для нитрования; целлюлоза, полученная комбинированным способом, может найти применение в бумажной отрасли.

Ключевые слова: мискантус сорта Сорановский, лист, стебель, жировосковая фракция, целлюлоза, зольность, азотнокислый способ, комбинированный способ, α -целлюлоза, остаточный лигнин, степень полимеризации.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что одним из наиболее распространенных природных биополимеров является целлюлоза, синтезируемая высшими растениями, водорослями и некоторыми видами бактерий. Благодаря ценным свойствам – высокой прочности, биосовместимости, нетоксичности, биоразлагаемости, доступности – целлюлоза

является востребованным веществом многоцелевого назначения и сырьевой основой для получения широкого спектра новых материалов, включая наноматериалы, используемых в различных областях промышленности: целлюлозно-бумажной, текстильной, пищевой, нефтедобывающей, лакокрасочной, топливной, электронной, фармацевтической, медицинской и др. (Ткачева и др., 2013). Исторически

в России крупномасштабное производство целлюлозы традиционно было ориентировано на древесину. Тем не менее недревесные источники целлюлозы (лен, конопля, тростник, солома злаков) представлены и обоснованы в современном справочнике химика-технолога (Новый справочник ..., 2006) промышленно значимыми видами сырья. В связи с потерей при распаде СССР хлопковых плантаций – источника элитной хлопковой целлюлозы – актуальность освоения новых источников недревесной целлюлозы многократно возрастает.

Введение в культуру видов растений, дающих высокие урожаи биомассы с высоким содержанием целлюлозы, выращиваемых традиционными методами сельского хозяйства, может оказаться весьма перспективным способом вовлечения новых источников высококачественной целлюлозы для многоцелевого использования (Шумный и др., 2010). В отличие от отходов переработки злаков (соломы и плодовых оболочек), для которых стоимость формируется расходами доставки сырья до производства целлюлозы, энергетическое растение *Miscanthus sinensis* Andersson требует особого внимания по адаптации к природно-климатическим условиям, использованию минеральных удобрений и больших трудозатрат при закладке, прополке, но характеризуется не только возможностью выращивания на непригодных для культурных злаков почвах, но и многолетней высокой урожайностью после одноразовой посадки (Булаткин, Митенко, 2013). В настоящее время зарубежными исследователями данное растение позиционируется в качестве перспективного целлюлозосодержащего сырья как для производства целлюлозы и продуктов ее химической модификации, так и для биотехнологического получения растворимых углеводов и биотоплива (Somerville *et al.*, 2010). Химический состав биомассы мискантуса различных генотипов, по зарубежным источникам, представлен в основном целлюлозой 40–60 % и лигнином 10–30 % (Jones, Walsh, 2001; Brosse *et al.*, 2012).

Первая попытка оценить химический состав листа и стебля *Miscanthus sinensis* Andersson была предпринята в 1983 г. украинскими учеными, которые уже рассматривали мискантус как сырье для целлюлозно-бумажной промышленности (Кроткевич и др., 1983). Для получения

целлюлозы П.Г. Кроткевич с коллегами использовали побеги четырехлетних растений, предоставленных Киевским ботаническим садом АН УССР. Исследователи разделили *Miscanthus sinensis* Andersson на морфологические части и, определив химический состав, обнаружили разницу в содержании целлюлозы в стебле и листе 40,82 % и 33,24 % соответственно. Выделив образцы целлюлозы натронным способом из листа и стебля отдельно, авторы показали, что характеристики полученных целлюлоз соответствуют требованиям для производства различных видов бумаги.

В 2006 г. в России в ИЦиГ СО РАН выведена авторская форма мискантуса – сорт Сорановский (веерник китайский, *Miscanthus sinensis* Andersson). Этот сорт характеризуется измененной структурой корневой системы, образующей длинные побеги с ростовыми почками, быстро колонизирующей почвенное пространство, и создает сплошную и ровную (без кочек) плантацию мискантуса. С 2013 г. в соответствии с Государственным реестром селекционных достижений, допущенных к использованию, мискантус сорта Сорановский является технической культурой, источником целлюлозосодержащего сырья, пригодным к возделыванию во всех регионах России (№ 8854628, http://www.gossort.com/reestr/new_sort.html). Результаты исследования образцов мискантуса, выращенных в Новосибирской области на плантациях разного возраста, показали, что с увеличением возраста плантации увеличивается содержание целлюлозы и уменьшается содержание нецеллюлозных компонентов в биомассе мискантуса (Будаева и др., 2010).

Целями данной работы являлись определение химического состава мискантуса сорта Сорановский двух урожаев 2011 и 2012 гг. (г. Бийск): растения в целом, листа и стебля отдельно, а также получение образцов целлюлозы из урожая мискантуса 2012 г. азотнокислым и комбинированным способами в лабораторных условиях, сравнительное исследование характеристик полученных целлюлоз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первый объект исследования – мискантус-первогодок *Miscanthus sinensis* Andersson, ве-

ерник китайский сорта Сорановский, урожая 2011 г., выращенный на экспериментальной делянке ИПХЭТ СО РАН в 2011 г. Посадочный материал был предоставлен сотрудниками ИЦиГ СО РАН и высажен в апреле 2011 г. на выровненной земельной площадке без вспахивания почвы в борозды. Всходы не подкармливали, междурядья не рыхлили, не пропалывали, полив был редким. В октябре часть растений образовали соцветия-метелки, что свидетельствовало о спелости мискантуса, и был произведен сбор урожая срезом всех растений. Урожай мискантуса с площади 61 м² составил 848 растений (рис. 1, а), из которых 30 растений были с метелками (3,5 % от общего количества растений). Средняя плотность выросших растений была 14 шт. на 1 м². Масса всего урожая – 2,750 кг, масса мискантуса без метелок – 2,500 кг (91 %) при влажности 8 %. Самое длинное растение имело высоту 1,60 м (длина метелки – 0,28 м, количество листьев – 9 шт., длина листа – 0,40–0,55 м).

Второй объект исследования – мискантус урожая 2012 г., выращенный на той же делянке после среза первого урожая. Условия роста мискантуса были аналогичные предыдущему году за исключением погодных условий – аномальной жары лета 2012 г. Сбор урожая проводился также в октябре 2012 г. Масса всего урожая при влажности 8 % составила 12,300 кг (рис. 1, б), 0,202 кг на 1 м². Средняя масса одного растения (одного побега) – 0,005 кг. Плотность выросших побегов составила 39 шт. на 1 м². Средняя длина стебля спелого мискантуса (с метелкой) – 2,00 м. Но были растения, достигающие высоты 2,40 м.

Средняя длина метелок – $0,28 \pm 0,02$ м. Среднее количество листьев – 9 ± 1 шт., длина листа – $0,60 \pm 0,05$ м. Среднее отношение массы листа к массе целого растения – 0,539.

Для исследования химического состава мискантуса брали зрелые растения с наибольшей высотой и соцветиями-метелками, исследовали состав растения целиком, а также образцы листьев и стеблей отдельно. Измельчение всех образцов мискантуса проводили ножницами. Определение зольности (в пересчете на абсолютно сухое сырье – а.с.с.), массовой доли (м.д.) экстрактивных веществ – жировосковой фракции (ЖВФ) (экстрагент – дихлорметан, а.с.с.), м.д. кислотонерастворимого лигнина (а.с.с.), м.д. целлюлозы методом Кюршнера (а.с.с.) проводилось по стандартным методикам анализа растительного сырья (Оболенская и др., 1991), м.д. пентозанов определяли спектрофотометрическим методом (UNICO UV-2804, США) с использованием Fe-орсинового реактива (орсинол, Panreac, Испания) по методикам (ГОСТ 10820-75; Оболенская и др., 1991). Жирнокислотный состав ЖВФ анализировали по методу определения м.д. жирных кислот (ГОСТ 30418-96) к их общему содержанию в триглицеридах масел газохроматографическим методом на хроматографе газовом лабораторном с пламенно-ионизационным детектором и программированием температуры «Кристаллюкс 4000М» (Россия, г. Йошкар-Ола). Влажность определяли на анализаторе влажности MB 23/MB 25 («ОНАУС», США).

Для получения целлюлозы использовали урожай 2012 г. с плантации возрастом 2 года.

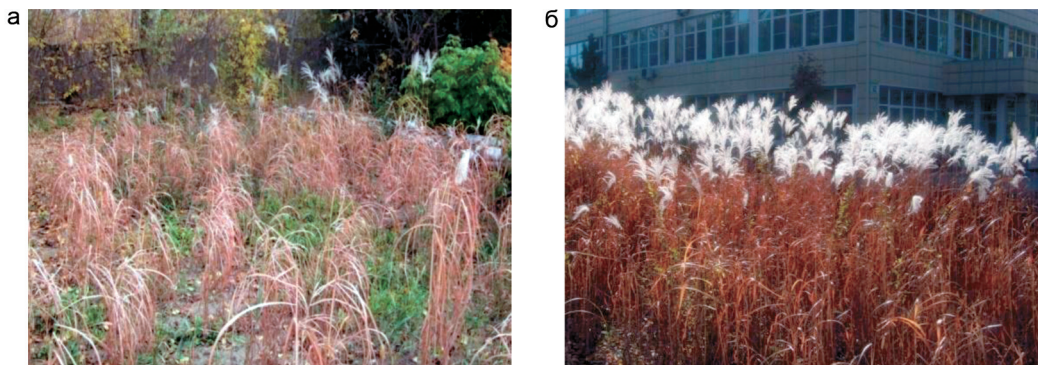


Рис. 1. Плантация мискантуса в октябре 2011 г. (ИПХЭТ СО РАН) (а), плантация мискантуса в октябре 2012 г. (ИПХЭТ СО РАН) (б).

Все способы выделения целлюлозы основаны на химическом разделении лигноцеллюлозной матрицы на отдельные полимеры, целлюлозу, гемицеллюлозы и лигнин с последующим растворением в варочных растворах, в первую очередь лигнина, во вторую – гемицеллюлоз. Целлюлоза в процессе варки остается в твердой фазе, сам процесс варки часто называют делигнификацией – удалением лигнина. Целлюлозу получали азотнокислым и комбинированным способами. Азотнокислый способ заключается в варке сырья в разбавленном растворе азотной кислоты при атмосферном давлении с последующей обработкой разбавленным раствором гидроксида натрия (Будаева и др., 2010). Данный способ был рекомендован для выделения целлюлозы из соломы злаковых культур русским химиком Н.И. Никитиным (1962), впервые авторами использован для мискантуса. В процессе обработки азотной кислотой помимо разрыва химических связей между целлюлозой, гемицеллюлозами и лигнином происходят гидролиз гемицеллюлоз с образованием растворимых ксилозы и ее предшественников, окислительное нитрование лигнина с образованием производных, легко удаляемых при последующей обработке окисленного нитролигнина разбавленным гидроксидом натрия. При выполнении рекомендуемых параметров азотнокислой варки (концентрация кислоты, продолжительность процесса) «освобожденная» таким образом целлюлоза характеризуется достаточно высоким качеством: сохраняет высокую степень полимеризации, не содержит окисленные группы. Превышение концентрации или продолжительности варки может привести к потере целевой целлюлозы, уменьшению выхода, но нитрование целлюлозы разбавленным водным раствором азотной кислоты не описано (Никитин, 1962). Комбинированный способ предполагает обратный порядок использования разбавленных растворов гидроксида натрия и азотной кислоты (Будаева и др., 2011).

Анализ зольности, м.д. остаточного (кислотонерастворимого) лигнина, м.д. α -целлюлозы проводили по стандартным методикам для полупродуктов и целлюлозы (Оболенская и др., 1991), м.д. пентозанов определяли спектрофотометрическим методом (UNICO UV-2804, США) с использованием Fe-орсинового реактива (орсинол, Panreac, Испания) по методикам (ГОСТ

10820-75; Оболенская и др., 1991), степень полимеризации (СП) целлюлоз – по вязкости растворов в кадоксене на вискозиметре ВПЖ-3 с диаметром капилляра 0,92 мм по методикам (ГОСТ 25438-82; Оболенская и др., 1991).

Морфологию поверхности волокон целлюлозы изучали методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) на сканирующем электронном микроскопе JEOLGSM 840 (Япония) после напыления Pt слоем 1–5 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химические составы мискантуса-первогодка урожая 2011 г., выращенного на плантации ИПХЭТ СО РАН, растения в целом, листа и стебля отдельно представлены в виде диаграммы на рис. 2, а.

В зарубежной литературе отсутствует информация о химическом составе мискантуса возрастом 1 год. Сравнение полученных результатов с данными для мискантуса-первогодка, выращенного в Новосибирской области (Будаева и др., 2010), позволило обнаружить, что для молодого растения характерны повышенные значения зольности и м.д. кислотонерастворимого лигнина: 6,30 % против 5,56 % и 22,23 % против 18,46 % соответственно. Кроме того, м.д. ЖВФ 5,71 % также превышает данные для первогодка, выращенного в более холодном районе: 4,30 %.

Анализ ЖВФ показал наличие 24 жирных кислот, миристиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой, арахидовой, бегеновой. Полученные результаты согласуются с информацией о наличии предельных и непредельных жирных кислот в составе ЖВФ, экстрагированной также дихлорметаном из зарубежного взрослого мискантуса (Villaverde *et al.*, 2009).

Сравнение химических составов листа и стебля между собой свидетельствует о более высоком содержании нецеллюлозных примесей в листе: ЖВФ (7,70 % против 4,30 %), золы (11,50 % против 2,96 %), кислотонерастворимого лигнина (23,94 % против 20,51 %). Такая же закономерность была обнаружена П.Г. Кроткевичем с коллегами (1983).

Химический состав мискантуса урожая 2012 г. с плантации возрастом 2 года (растение

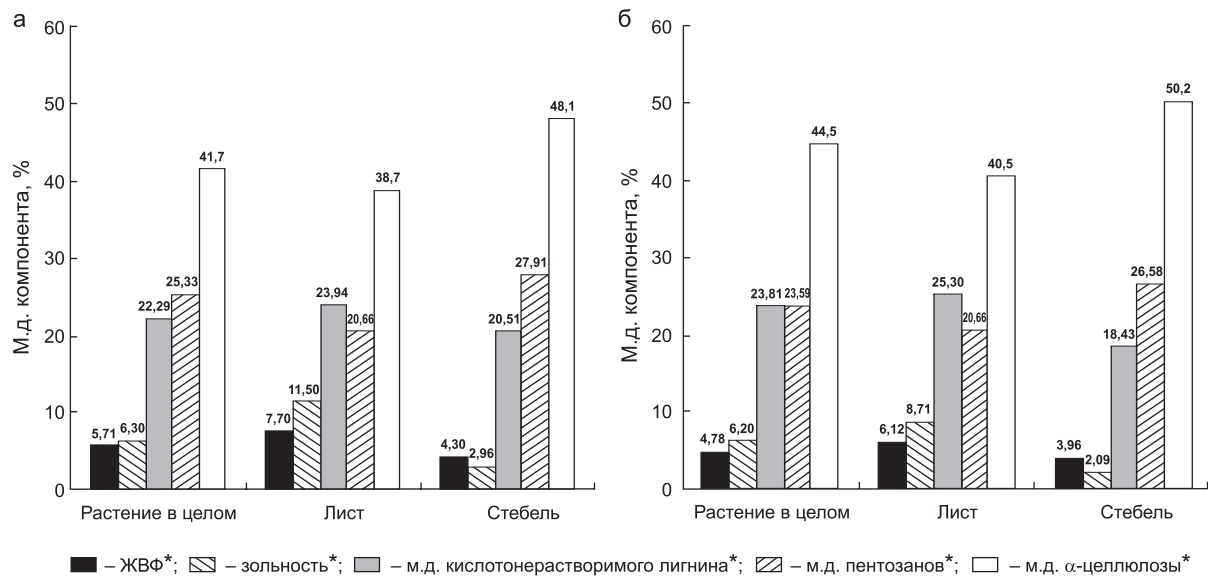


Рис. 2. Массовые доли жировосковой фракции, золы, кислотонерастворимого лигнина, пентозанов, целлюлозы в мискантуса-первогодке урожая 2011 г. в растении в целом, листе и стебле отдельно (а); в мискантуса-урожае 2012 г. с плантации возрастом 2 года: в растении в целом, листе и стебле отдельно (б).

* В пересчете на а.с.с.

в целом, лист и стебель отдельно) представлен в виде диаграммы на рис. 2, б.

Сравнение данных результатов с химическим составом растения-первогодка свидетельствует о небольшом снижении м.д. ЖВФ (4,78 % против 5,71 %) и некотором повышении м.д. целлюлозы (44,5 % против 41,7 %).

Сравнение химического состава листа и стебля отдельно свидетельствует о более высоком содержании нецеллюлозных примесей в листьях мискантуса: ЖВФ (6,12 % против 3,96 %), золы (8,71 % против 2,09 %), кислотонерастворимого лигнина (25,30 % против 18,43 %). Аналогично химическому составу урожая 2011 г. разрыв между значениями м.д. целлюлозы в стебле и в листе находится на том же уровне (около 10 %); м.д. пентозанов выше в стебле, чем в листе: 26,58 % против 20,66 %. Следует отметить, что в зарубежных видах мискантуса гемицеллюлозы представлены преимущественно пентозанами, а именно ксиланом (Jones, Walsh, 2001).

Сравнивая урожаи мискантуса 2011 и 2012 гг. между собой и данные, приведенные в источнике (Кроткевич и др., 1983), можно сделать вывод о том, что целлюлоза превалирует в стебле, а нецеллюлозные компоненты

(за исключением пентозанов) – в листе. Такое сравнение позволяет сделать вывод о том, что независимо от места произрастания и возраста растения стебель характеризуется большим содержанием целлюлозы и меньшим содержанием нецеллюлозных компонентов в сравнении с листом. Исключением являются пентозаны (нецеллюлозный компонент), которые преобладают в стебле. Подобного рода закономерности были описаны для соломы злаковых культур в книгах (Лендзел, Морвай, 1978; Sun, 2010), что касается непосредственно различных генотипов зарубежного мискантуса, то отсутствует информация о количественных различиях компонентного состава листа и стебля, и рекомендовано использовать в переработку растение в целом (Brosse *et al.*, 2012) без удаления листа.

Ранее отмеченная в статье (Будаева, 2010) зависимость м.д. целлюлозы от возраста плантации прослеживается и для данных образцов сырья: м.д. целлюлозы в стебле более взрослого растения выше, чем соответствующий показатель растения-первогодка (50,2 % против 48,1 %). Однако целлюлозы в мискантуса-урожае 2012 г. могло быть еще больше, если бы не аномально жаркая погода в 2012 г. Урожай был выращен в неблагоприятных условиях.

Таким образом, в результате определения химического состава российского мискантуса с плантаций возрастом 1 и 2 года обнаружены закономерные отличия содержания компонентов в листе и стебле в пользу последнего, а также возрастные закономерности изменений м.д. нецеллюлозных примесей в целом растении.

Были получены образцы целлюлозы из мискантуса возрастом 2 года из целого растения, листа и стебля отдельно. Характеристики целлюлоз, полученных азотнокислым способом из мискантуса урожая 2012 г., представлены в табл. 1 и для наглядности результатов – на рис. 3.

Качество целлюлозы растения в целом подтверждается высокими значениями м.д. α -целлюлозы – 92 % и СП – 830, а также м.д. суммы нецеллюлозных примесей (зола, лигнина и пентозанов), которая составляет не более 3 %, что привлекает внимание исследователей с

целью дальнейшей этерификации, в том числе и для получения сложных эфиров (нитратов целлюлозы) (Гисматулина и др., 2012; Якушева, 2012).

При сравнении целлюлозы, полученной из листа и стебля, очевидно, что различия в значениях м.д. α -целлюлозы и СП (92 % против 94 % и 580 против 800) свидетельствуют в пользу образца из стебля. Также следует подчеркнуть, что м.д. суммы нецеллюлозных примесей в образце из стебля в три раза меньше, чем в образце из листа: 0,95 % против 2,95 %; отдельно для содержания лигнина: в целлюлозе из стебля 0,45 % против значения в целлюлозе из листа 1,51 %.

Характеристики целлюлоз, полученных комбинированным способом из мискантуса урожая 2012 г.: из целого растения, листа и стебля отдельно представлены в табл. 2 и для наглядности результатов – на рис. 4.

Таблица 1

Характеристики целлюлоз, полученных азотнокислым способом из мискантуса урожая 2012 г.: из целого растения, листа и стебля отдельно

Сырье	М.д. α -целлюлозы*, %	СП	М.д. нецеллюлозных компонентов*, %		
			зола	лигнин	пентозаны
Растение в целом	91,8 $\pm$ 0,5	830	0,62 $\pm$ 0,01	1,59 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,05
Лист	91,7 $\pm$ 0,5	580	1,01 $\pm$ 0,01	1,51 $\pm$ 0,05	0,43 $\pm$ 0,05
Стебель	94,4 $\pm$ 0,5	800	0,07 $\pm$ 0,01	0,45 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,05

Примечание. * В пересчете на а.с.с., СП – степень полимеризации.

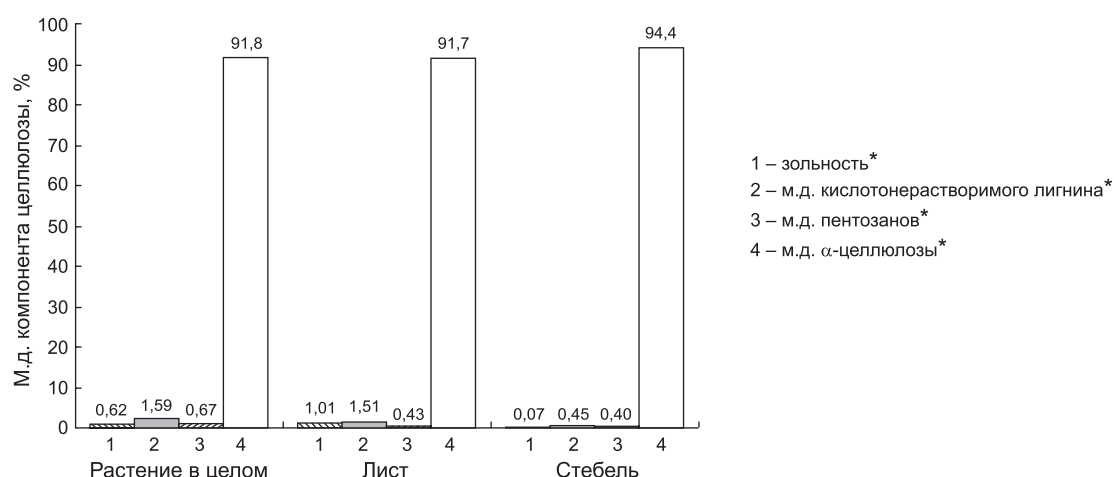


Рис. 3. Характеристики целлюлоз, полученных азотнокислым способом из мискантуса урожая 2012 г.: из целого растения, листа и стебля отдельно.

* В пересчете на а.с.с.

Таблица 2

Характеристики целлюлоз, полученных комбинированным способом из мискантуса урожая 2012 г.: из целого растения, листа и стебля отдельно

Сырье	М.д. α-целлюлозы*, %	СП	М.д. нецеллюлозных компонентов*, %		
			зола	лигнин	пентозаны
Растение в целом	87,0 ± 0,5	950	0,44 ± 0,01	2,62 ± 0,05	7,10 ± 0,05
Лист	85,9 ± 0,5	640	0,75 ± 0,01	4,12 ± 0,05	8,53 ± 0,05
Стебель	88,5 ± 0,5	1040	0,14 ± 0,01	0,88 ± 0,05	6,38 ± 0,05

Обозначения те же, что и в табл. 1.

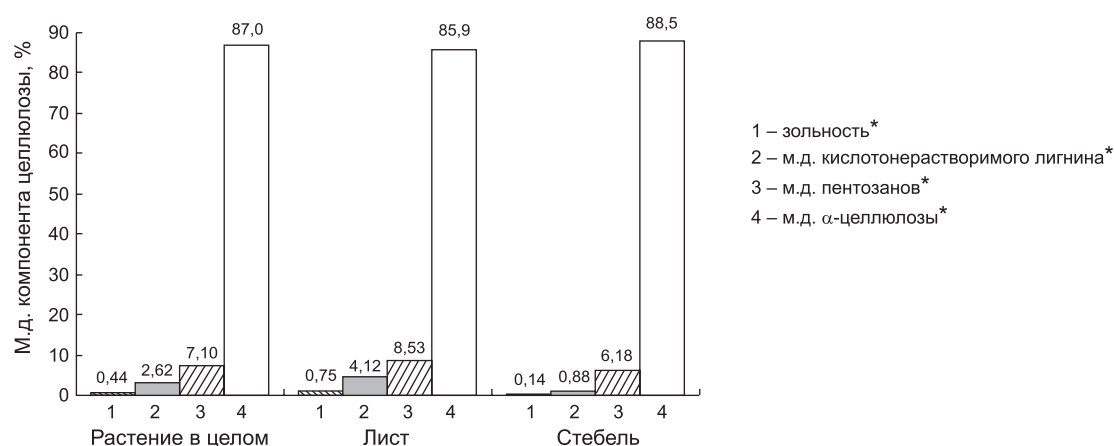


Рис. 4. Характеристики целлюлоз, полученных комбинированным способом из мискантуса урожая 2012 г.: из целого растения, листа и стебля отдельно.

* В пересчете на а.с.с.

Качество целлюлозы, полученной комбинированным способом из растения в целом, уступает азотнокислой целлюлозе, а именно: меньшая м.д. α-целлюлозы (87 % против 92 %), большая сумма нежелательных нецеллюлозных примесей (зола, лигнина и пентозанов) – 10 % против 3 %, СП находится на одном уровне – 950 против 830 соответственно.

Аналогично вышеизложенному для азотнокислого способа, целлюлоза, выделенная комбинированным способом, получилась более качественная из стебля, чем из листа: м.д. α-целлюлозы – 88,5 % против 85,9 %, СП – 1040 против 640, зольность – 0,14 % против 0,75 %, кислотонерастворимый лигнин – 0,88 % против 4,12 %, м.д. пентозанов – 6,38 % против 8,53 %.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что подходящим сырьем для получения целлюлозы из мискантуса является урожай с наименьшей м.д. листа, т. е. выращенный на

плантации с максимальной плотностью посадки, которая достигается на 3–4-й год, после чего ежегодный выход биомассы составляет 10–15 т/га и сохраняется 15–20 лет (Шумный и др., 2010).

На рис. 5 представлены фото РЭМ целлюлоз, полученных из мискантуса азотнокислым (а, б, в) и комбинированным (г, д, е) способами. Следует подчеркнуть, что целлюлозы, полученные различными способами из растения в целом (рис. 5, а, г), мало отличаются друг от друга и представляют собой плоские, достаточно длинные волокна со множеством изломов и надрывов, но в среднем есть разница в ширине волокон: 10 нм у азотнокислой целлюлозы, примерно 40 нм – у комбинированной. Очень сложную форму имеют волокна целлюлозы, полученные из листа (рис. 5, б, д): у азотнокислой целлюлозы наряду с короткими плоскими волокнами есть длинные, скрученные многократно, у комбинированной целлюлозы – очень тонкие длин-

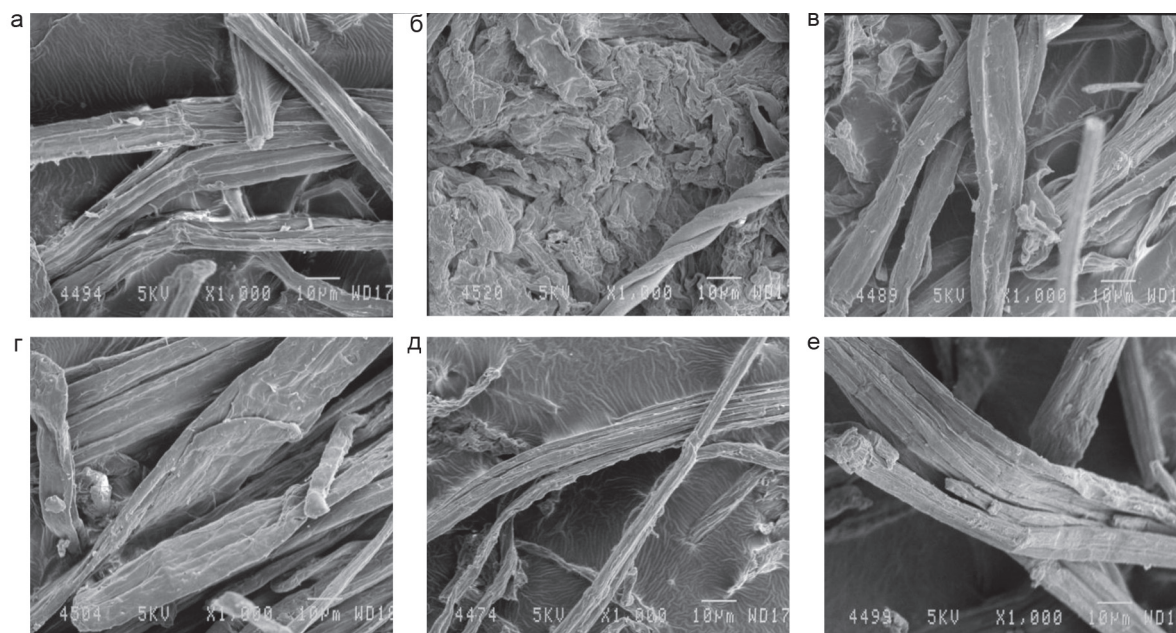


Рис. 5. Волокна целлюлозы, полученных из мискантуса из целого растения, листа и стебля отдельно азотно-кислым способом (а, б, в) и комбинированным способом (г, д, е) соответственно, $\times 1000$.

ные, не потерявшие формы волокна. На фото (рис. 5, в, е) видно, что целлюлозы из стебля имеют классическую форму волокон, причем у азотнокислой целлюлозы на фото (рис. 5, в) есть волокно в виде трубочки, т. е. с овальным сечением в разрезе и с продольным отверстием внутри. В целом целлюлозы, полученные азотно-кислым способом, более гладкие (рис. 5, в), а комбинированные (рис. 5, е) имеют более шероховатую структуру.

Известно, что эталонной целлюлозой является хлопковая целлюлоза, используемая для нитрования с целью получения нитроцеллюлозы, а также для производства ацетилцеллюлозы и медно-аммиачного волокна. Некоторые требования к качеству хлопковой целлюлозы приведены в табл. 3 (ГОСТ 595-79; Жегров и др., 2011). У хлопковой целлюлозы м.д. пентозанов не нормируется, но существуют рекомендации снизить содержание пентозанов в целлюлозе до

Таблица 3

Основные характеристики целлюлозы из хлопка (ГОСТ 595-79) и целлюлозы, полученной из мискантуса азотнокислым способом

Характеристики	Целлюлоза из:	
	хлопка	мискантуса
М.д. α -целлюлозы, %	96,0–98,0	91,7–94,4
Смачиваемость, г	140–150	–
Зольность, %	0,2–0,3	0,1–1,0
М.д. остатка, нерастворимого в серной кислоте, %	0,3–0,5	–
М.д. кислотонерастворимого лигнина, %	–	0,5–1,6
Массовая доля пентозанов, %	–	0,4–0,7
СП	1000 (Якушева, 2013), 2500–3500 (Шахмина, 2003)	580–800

Примечание. М.д. – массовая доля, СП – степень полимеризации, прочерк – данный показатель не нормируется действующей нормативно-технической документацией.

минимума. Динамическая вязкость хлопковой целлюлозы варьируется в широком диапазоне от 10–20 до 430–850 СП и нормирует марку целлюлозы, но в табл. 3 приведены степени полимеризации хлопковой целлюлозы (по: Шахмина, 2003; Якушева, 2013). Там же приведены основные характеристики целлюлозы, полученной из мискантуса азотнокислым способом.

Сравнение опытной целлюлозы с эталонной свидетельствует о преимуществе хлопковой, но целлюлоза из стебля мискантуса приближается к хлопковой по зольности, м.д. нерастворимого остатка – лигнина, м.д. пентозанов. Остаются недостижимыми высокие значения α -целлюлозы и СП, что связано с природой данной целлюлозы. Так, например, известно, что СП нативной целлюлозы зарубежных видов мискантуса не более 1600 (Jones, Walsh, 2001).

В Китайской Народной Республике промышленным способом получения целлюлозы из мискантуса *sacchariflorus* (амурского) является крафт-варка: в смеси гидроксида натрия с сульфидом натрия при температуре варки 165 °С с гарантией получения целлюлозного продукта с выходом 54 %, с остаточным лигнином 1,15–1,33 %. С 1987 г. целлюлозно-бумажная фабрика Юиянг (Yueyang Paper Mill) выпускает приблизительно 120 т/день целлюлозы, пригодной для офсетной печати (Jones, Walsh, 2001).

В России рассматривался сульфатный метод получения целлюлозы из соломы злаков и тростника. Известно, что данная целлюлоза характеризуется содержанием α -целлюлозы на уровне 75–80 %, высоким содержанием пентозанов 18–24 % и высокой зольностью; волокна соломенной и тростниковой целлюлозы очень мелкие, они быстро гидратируются при размоле, но трудно поддаются фибрилляции и продольному расщеплению (Иванов, 2006). Целлюлоза, полученная комбинированным способом из мискантуса, характеризуется м.д. α -целлюлозы такого же порядка: 85,9–88,5 %, м.д. пентозанов гораздо ниже – 6,4–8,5 %, зольность крайне мала – 0,14–0,75 %. Можно предположить, что бумага, выработанная из такой целлюлозы, отличается повышенной жесткостью, хорошо проклеивается. Такая целлюлоза должна найти применение в композиции с древесной целлюлозой для выработки многих видов бумаги.

ВЫВОДЫ

Определен химический состав мискантуса сорта Сорановский урожаев 2011 и 2012 гг.: растения в целом, листа и стебля отдельно. Установлено, что в обоих случаях целлюлоза превалирует в стебле мискантуса, а нецеллюлозные компоненты (жировосковая фракция, зола, лигнин) – в листе.

Впервые получены образцы целлюлозы из листа и стебля мискантуса отдельно двумя способами (азотнокислым и комбинированным). Установлено, что наиболее качественная целлюлоза получается из стебля. Так, целлюлоза, полученная из стебля азотнокислым способом, обладает лучшим качеством, чем целлюлоза из листа, что выражается в высоких значениях содержания α -целлюлозы (94,4 % против 91,7 %) и степени полимеризации (800 против 580), а также низких значениях массовых долей нецеллюлозных компонентов: зола – 0,07 % против 1,01 %, кислотонерастворимый лигнин – 0,45 % против 1,51 %. Прослеживается та же закономерность с целлюлозами, полученными комбинированным способом: целлюлоза из стебля характеризуется более высоким качеством, чем из листа: высокие значения степени полимеризации – 1040 против 640 и низкие массовые доли нецеллюлозных компонентов: зола – 0,14 % против 0,75 %, кислотонерастворимый лигнин – 0,88 % против 4,12 %, пентозаны – 6,38 % против 8,53 %.

Очевидно, что целлюлоза, полученная азотнокислым способом, может быть пригодной для химических модификаций, в том числе для нитрования; целлюлоза, полученная комбинированным способом, может найти применение в бумажной отрасли.

ЛИТЕРАТУРА

- Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н., Архипова О.С. Свойства целлюлозы мискантуса // Ползуновский вестник. 2010. № 3. С. 240–245.
- Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н., Сакович Г.В. Новые сырьевые источники целлюлозы для технической химии // Вестн. Казан. технол. ун-та. 2011. № 7. С. 205–212.
- Булаткин Г.А., Митенко Г.В. Перспективная энергетическая культура – мискантус китайский // Экол. вестн. России. 2013. № 7. С. 31–36.
- Гисматулина Ю.А., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Получе-

- ние и свойства целлюлозы, пригодной для нитрования // Перспективы создания и применения конденсированных высокоэнергетических материалов: докл. IV науч.-техн. конф. молодых ученых. Бийск, 27–28 сентября 2012. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2012. С. 30–44.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, мискантус сорта Сорановский № 8854628, 2013 г., http://www.gossort.com/reestr/new_sort.html.
- ГОСТ 25438-82. Целлюлоза для химической переработки. Методы определения характеристической вязкости. Изд. официальное. М.: Изд-во стандартов, 1982. 20 с.
- ГОСТ 10820-75. Целлюлоза. Метод определения массовой доли пентозанов. Изд. официальное. М.: Изд-во стандартов, 1991. 8 с.
- ГОСТ 30418-96. Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава. Изд. официальное. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1998. 6 с.
- ГОСТ 595-79. Целлюлоза хлопковая. Технические условия. Изд. официальное. М.: Изд-во стандартов, 2002. 14 с.
- Жегров Е.Ф., Милехин Ю.М., Берковская Е.В. Химия и технология баллистических порохов, твердых ракетных и специальных топлив. Т. 2. Технология. М.: РИЦ МГУП им. И. Федорова, 2011. С. 57–59.
- Иванов С.Н. Технология бумаги. Изд. третье. М.: Школа бумаги, 2006. С. 33–35.
- Кроткевич П.Г., Шумейко К.И., Волошина Л.А., Нестерчук Е.Н., Петрунь И.И. Морфологические особенности и химический состав *Miscanthus sinensis* Anderss. как сырья для целлюлозно-бумажной промышленности // Растит. ресурсы. 1983. Т. XIX. Вып. 3. С. 321–323.
- Лендьял П., Морваи Ш. Химия и технология целлюлозного производства: Пер. с нем. Ф.Б. Дубровинской / Под ред. А.Ф. Тищенко. М.: Лесн. пром-сть, 1978. С. 131–133, 447–450.
- Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. 711 с.
- Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. СПб.: НПО «Профессионал», 2006. 1142 с.
- Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. С. 73–75, 79–80, 106–107, 161–164.
- Ткачева Н.И., Морозов С.В., Григорьев И.А., Могнонов Д.М., Колчанов Н.А. Модификация целлюлозы – перспективное направление в создании новых материалов // Высокомолекулярные соединения. 2013. Сер. Б. Т. 55. № 8. С. 1086–1107. DOI: 10.7868/S0507547513070179.
- Шахмина Е.В. Адаптация нового целлюлозного сырья к технологиям химической промышленности // Современные проблемы технической химии: Матер. докл. Всерос. науч.-техн. конф. Казань, 21–23 ноября 2003. Казань: КГТУ, 2003. С. 231–232.
- Шумный В.К., Вепрев С.Г., Нечипоренко Н.Н., Горячковская Т.Н., Слынько Н.М., Колчанов Н.А., Пельтек С.Е. Новая форма мискантуса китайского (веерника китайского, *Miscanthus sinensis* Anderss.) как перспективный источник целлюлозосодержащего сырья // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2010. Т. 14. № 1. С. 122–126.
- Якушева А.А. Нитраты целлюлозы из российского мискантуса // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: Матер. 5-й Всерос. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 24–26 мая 2012. Бийск: Изд-во Алт. гос. тех. ун-та, 2012. Ч. 1. С. 186–190.
- Якушева А.А. Свойства нитроцеллюлоз из хлопка и плодовых оболочек овса // Ползуновский вестник. 2013. № 3. С. 202–206.
- Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production // Biofuels, Bioprod., Bioref. 2012. V. 6. I. 5. P. 580–598. DOI: 10.1002/bbb.
- Jones M.B., Walsh M. *Miscanthus*: For Energy and Fibre. Published by Earthscan, 2001. 192 p.
- Somerville C., Youngs H., Taylor C., Davis S.C., Long S.P. Feedstocks for lignocellulosic biofuels // Science. 2010. V. 329. P. 790–792.
- Sun R.C. Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels – Chemistry, Extractives, Lignins, Hemicelluloses and Cellulose. Elsevier, 2010. P. 30.
- Villaverde J.J., Domingues R.M.A., Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Pascoal Neto C., Ligerio P., Vega A. *Miscanthus × giganteus* extractives: a source of valuable phenolic compounds and sterols // J. Agric. Food Chem. 2009. V. 57. No. 9. P. 3626–3631.

CELLULOSE FROM VARIOUS PARTS OF SORANOVSKII MISCANTHUS**Yu.A. Gismatulina¹, V.V. Budaeva¹, S.G. Veprev², G.V. Sakovich¹, V.K. Shumny²**

¹ Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russia,
e-mail: ipcet@mail.ru, julja.gismatulina@rambler.ru

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: shumny@bionet.nsc.ru

Summary

The chemical composition of the Soranovskii *Miscanthus* variety harvested in 2011 and 2012 was separately determined in the whole plant, leaves, and stem. In all cases, cellulose was found to prevail in the *Miscanthus* stem, and non-cellulosic components (the fat-wax fraction, ash, and lignin), in leaves. Cellulose samples were for the first time obtained from leaves and stems separately by two methods (nitric-acid and combined). The best quality cellulose was derived from stems. For instance, cellulose isolated from stems by the nitric-acid process was better than that from leaves, which was expressed as a higher α cellulose content (94,4 % versus 91,7 %) and polymerization degree (800 versus 580), as well as low weight fractions of non-cellulosic components: ash (0,07 % versus 1,01 %) and acid-insoluble lignin (0,45 % versus 1,51 %). The same tendency is observed in celluloses produced by the combined method: Cellulose from stems had better quality than that from leaves; specifically, it had a greater polymerization degree (1040 versus 640) and lower weight fractions of non-cellulosic components: ash (0,14 % versus 0,75 %), acid-insoluble lignin (0,88 % versus 4,2 %), and pentosans (6,8 % versus 8,53 %). It is obvious that cellulose obtained by the nitric-acid method can be suitable for chemical modifications, including nitration. Cellulose from the combined process can be utilized in paper industry.

Key words: Soranovskii *Miscanthus*, leaf, stem, fat-wax fraction, cellulose, ash content, nitric-acid method, combined method, α -cellulose, residual lignin, polymerization degree.

УДК 612.015.161

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОСИНТЕЗА ЭТАНОЛА ИЗ МИСКАНТУСА

© 2014 г. О.В. Байбакова, Е.А. Скиба

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем химико-энергетических технологий
Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия,
e-mail: ipcet@mail.ru, olka_baibakova@mail.ru

Поступила в редакцию 11 марта 2014 г. Принята к публикации 13 августа 2014 г.

В данной работе показано, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693 устойчивы к ферментативному водному гидролизату мискантуса, их хорошее морфофизиологическое состояние указывает на отсутствие в средах вредных примесей, характерных для кислотных химических гидролизатов. Установлено, что для биосинтеза этанола на среде ферментативного гидролизата целлюлозы мискантуса оптимальной является нативная активная кислотность гидролизата – 4,5–4,7 ед. pH; показано, что добавление 1 %-го дрожжевого экстракта позволяет сделать среду ферментативного водного гидролизата целлюлозы мискантуса полноценной. При этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития; методом газожидкостной хроматографии установлено, что ферментативный способ гидролиза целлюлозы мискантуса позволяет получать этанол с низким содержанием эфиров и сивушных масел. Метанол в биоэтаноле из мискантуса отсутствует.

Ключевые слова: мискантус сорта Сорановский, ферментативный гидролиз, техническая целлюлоза, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693, штамм, биоэтанол.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с развитием биоэнергетики в настоящее время биомасса считается одним из ключевых возобновляемых энергетических ресурсов будущего. По ориентировочным оценкам, мировые разведанные запасы нефтепродуктов примерно равны запасам древесины на нашей планете, однако ресурсы углеводов быстро истощаются, в то время как в результате естественного прироста запасы биомассы растений восстанавливаются. В недалеком будущем ожидается переход от нефтехимического производства к биохимической и химической переработке древесины и других видов растительного сырья (Аблаев, 2011).

В настоящее время в связи с бережливым отношением к лесным ресурсам наиболее актуальными являются задачи по поиску альтернативных древесине возобновляемых источников энергии с одновременным решением экологических

проблем и развитием энергосберегающих технологий.

Значительное внимание в мире уделяется проблеме переработки биомассы с целью получения биотоплива. Комплексная переработка лигноцеллюлозной биомассы химическими и/или биотехнологическими методами в спектр конкурентоспособных продуктов и энергию (biorefinery) (Кузнецова, 2013) является современным и фундаментальным направлением промышленной биотехнологии, которое развивается в индустриальных странах. Так, в странах Евросоюза около 3 % (65 млн т условного топлива) всех энергетических потребностей покрывается за счет биомассы, в отдельных странах этот показатель достигает 23 % (Финляндия), 18 % (Швеция) и 12 % (Австрия) (Булаткин и др., 2013). Биомасса в энергетике может быть использована непосредственно путем сжигания или может быть трансформирована химическими и биотехнологическими

методами в дизельное топливо, этанол или газ. Источником энергетического сырья могут быть побочные продукты растительного происхождения (солома, подсолнечная лузга, стебли кукурузы и др.), ежегодные отходы которых составляют до 50 млн т в России. В агропромышленном производстве одним из источников для производства биомассы как целлюлозосодержащего сырья является культура из семейства злаковых (Poaceae) мискантус китайский, или веерник (*Miscanthus sinensis* Andersson) (Шумный и др., 2010). В Институте цитологии и генетики СО РАН в 2006 г. выведена авторская форма мискантуса – сорт Сорановский, она рассматривается как альтернативное древесине легковозобновляемое сырье для производства биотоплива – этанола.

Производство биоэтанола второго поколения – биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья – с экономической точки зрения является дорогостоящим, так как предобработка биомассы включает и физические, и химические и термобарические воздействия, цель которых максимизировать воздействие на химические связи биомассы. Целлюлозосодержащее сырье представляет собой прочную матрицу, образованную целлюлозой и гемицеллюлозой и скрепленную лигнином; взаимосвязь этих компонентов обуславливает устойчивость матрицы ко всем внешним воздействиям, поэтому для ее деструкции применяют комбинаторные способы. Предобработка необходима для повышения доступности целлюлозы и гемицеллюлозы к действию гидролитических ферментов и получения высокой степени конверсии данных полимеров в сахара.

Ферментативные превращения растительной биомассы в раствор сахаров, проводимые после химической предобработки сырья, и последующее биохимическое превращение сахаров в этанол активно изучаются во всем мире (Brosse *et al.*, 2009; Somerville *et al.*, 2010; Jordan *et al.*, 2012). Наибольшее количество исследований посвящено именно стадии химической предобработки. Достаточно большая серия работ проводится с целью оптимизации стадии ферментативного гидролиза (создание как новых ферментных комплексов, так и технологических условий ферментализации). Недостатками таких опытов являются низкие

концентрации субстратов (следовательно, получение разбавленных растворов сахаров – 30 г/л), а также использование ацетатного буфера для проведения ферментализации (следовательно, получение питательной среды, изначально непригодной для метаболизма дрожжей и биосинтеза этанола). Видимо, этим можно объяснить сравнительно небольшое число публикаций, посвященных получению биоэтанола, при этом авторы избегают детального указания технологических режимов производства. В России получение биоэтанола из мискантуса не описано, несмотря на то что такая возможность рассматривалась.

В ИПХЭТ СО РАН биоконверсия биомассы мискантуса в топливо осуществляется по следующей схеме, приведенной на рис. 1.

Стадии химической предобработки и ферментативного гидролиза были детально отработаны и описаны нами ранее. В данной работе эти стадии изучены и представлены в оптимальных режимах, позволяющих получить высокий выход целевых полупродуктов (технической целлюлозы (ТЦ) мискантуса, ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса). Целью работы являлось изучение некоторых биотехнологических аспектов превращения редуцирующих сахаров ферментативных гидролизатов мискантуса в биоэтанол.



Рис. 1. Принципиальная технологическая схема получения биоэтанола из биомассы мискантуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полный эксперимент по получению спирта (ферментативный гидролиз, сбраживание полученных гидролизатов) был проведен в трех повторностях, средние значения которых приведены в данной работе.

В качестве сырья для получения биоэтанола использовался мискантус *Miscanthus sinensis* Andersson, веерник китайский сорта Сорановский (возраст плантации – 9 лет), выращенный ИЦиГ СО РАН в Новосибирской области и предоставленный в ИПХЭТ СО РАН для исследований по междисциплинарному проекту № 73. Техническая целлюлоза из мискантуса была получена на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН азотнокислым способом (АС), который заключается в варке сырья в разбавленном растворе азотной кислоты при атмосферном давлении с последующей обработкой разбавленным раствором гидроксида натрия (Будаева и др., 2013; Гисматулина и др., 2013).

Ферментативный гидролиз влажной ТЦ проводился в реакторе общим объемом 11 л (Павлов, 2014) мультиэнзимной композицией, состоящей из доступных на рынке ферментных препаратов: «Брюзайм ВГХ», «Целлолюкс-А» и «Рапидаза ЦР» в количестве 0,04 г/г субстрата. Особенностью процесса является проведение его не в ацетатном буфере, а в водной среде (Скиба и др., 2012).

Ферментативный гидролизат представлял собой коричнево-желтую мутноватую жидкость с характерным кисловатым запахом мискантуса. Полученный после ферментализации гидролизат отфильтровывался, дополнительно в него вносился сульфат аммония в количестве 10 г/л, гидролизат пастеризовался при температуре 100 °С, без выдержки, охлаждался и направлялся на сбраживание с помощью штамма *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693 (ФГУП «ГосНИИГенетика», г. Москва). Штамм был выделен из ферментера Котласского целлюлозно-бумажного комбината и использовался для производства этанола на гидролизатах древесины. Особенностью штамма является его устойчивость к вредным примесям гидролизатов. Брожение осуществлялось в анаэробных условиях при температуре 28 °С периодическим способом.

Концентрацию редуцирующих веществ (РВ) определяли спектрофотометрически с помощью реактива 3,5-динитросалициловой кислоты (спектрофотометр «UNICO» UV-2804, США) в пересчете на глюкозу. Активная кислотность измерялась потенциометрически (рН-метр Cheset-1). Объемную долю спирта в бражке определяли ареометром в дистилляте, полученном перегонкой спирта из бражки (ГОСТ Р 51135-98-2003, 2003). Этанол из бражки был сконцентрирован методом простой перегонки, и дополнительной очистки не проводилось.

Теоретическая концентрация этанола рассчитана по стехиометрическому уравнению брожения, а выход этанола – как отношение экспериментальной концентрации этанола к теоретической. Экономический коэффициент брожения $Y_{P/S (PB)}$ представляет собой отношение концентрации продукта (этанола) к концентрации РВ в ферментативном гидролизате.

Анализ этанола выполнен методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) (ГОСТ Р 51786-2001, 2001) на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 2000М» фирмы «СКБ Хроматэк» (г. Йошкар-Ола, Россия). Условия эксперимента: колонка газохроматографическая капиллярная ZB-FFAP (США) 50 м × 0,32 мм × 0,52 мкм, температура детектора 220 °С, температура испарителя 190 °С, выдержка пробы при температуре 77 °С длительностью 6 мин 30 с, затем – нагрев со скоростью 10 °С/мин до температуры 210 °С, выдержка 15 мин, коэффициент деления потока 40 : 1, газ-носитель – азот сжатый, давление газа-носителя (азота) – 77 кПа, соотношение воздух – водород равно 250 : 25; построение калибровочного графика по градуировочным смесям – государственным стандартным образцам; расход газа (сброс) – 30 мл/мин, расход газа (поддув в ПИД) – 30 мл/мин, расход газа (водород в ПИД) – 20 мл/мин, расход газа (воздух ПИД) – 200 мл/мин, объем пробы – 1 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе рассматриваются некоторые аспекты стадии спиртового брожения на среде ферментативного гидролизата мискантуса.

Известно, что гидролизные среды целлюлозосодержащего сырья не являются полноценной

средой для культивирования дрожжей, так как в них недостаточное содержание азотных и фосфорных соединений, отсутствуют витамины и стимуляторы роста и могут содержаться вредные примеси, снижающие биологическую доброкачественность сред. Однако ферментативные гидролизаты получают в мягких условиях, поэтому в них ниже концентрация либо отсутствуют некоторые вредные примеси (фурфурол, метанол, формальдегид, терпены, оксиметилфурфурол, летучие кислоты).

Устойчивость штамма Y-1693 определялась длительным культивированием на среде ферментативного гидролизата мискантуса в течение трех месяцев. Гидролизная среда стерилизовалась при 0,5 атм в течение 30 мин, и после проверки стерильности в нее вносилось 5 масс. % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития и имеющих следующие характеристики: общее количество – 158,5 КОЕ/мл; из них 19 % почкующихся, 70 % упитанных и 1 % мертвых. После внесения дрожжей среды были стерильно разлиты в стеклянные химические пробирки по 10 мл в каждую и закрыты ватно-марлевыми пробками. С целью исключения возможности инфицирования для проведения текущих анализов каждый раз отбиралась одна пробирка.

При культивировании штамма в течение 80 суток снижения общего количества дрожжевых клеток не наблюдалось (рис. 2), затем их численность медленно снижалась.

Можно сделать вывод, что дрожжи достаточно устойчивы к гидролизным средам, что указывает на высокое качество ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса. Хорошее

морфофизиологическое состояние дрожжей косвенно говорит об отсутствии в среде вредных примесей, характерных для химических гидролизатов.

Нативная активная кислотность ферментативного гидролизата ТЦ составляет 4,5–4,7 ед. рН, это же значение рекомендовано для получения этанола из зернокартофельного сырья (Яровенко и др., 1999). Для жизнедеятельности дрожжей максимально комфортным является рН 5,5 (Яровенко и др., 1999). Для получения гидролизного спирта из недревесного сырья рекомендован рН 3,9 (Шарков и др., 1973). Данные трех вариантов были изучены на ферментативном водном гидролизате ТЦ мискантуса с концентрацией редуцирующих веществ 51 г/л. Доза засевных дрожжей в данных экспериментах составила 5 %.

Во всех вариантах процесс брожения закончился через трое суток, о чем свидетельствуют и убыль РВ (глюкозы), и прирост объемной доли этанола (рис. 3). В варианте с рН 3,9 получен минимальный выход этанола (33 %), что можно связать с изначально неблагоприятной для жизнедеятельности дрожжей активной кислотностью. При рН ферментативного гидролизата 4,5–5,5 численность популяции возросла в три раза (с 13 до 36–39 млн КОЕ/мл) и не изменялась до конца опыта.

Активная кислотность среды 4,5 ед. рН позволяет получить максимальный выход этанола – 1,7 об. %, или 51,5 % от теоретического. Низкий выход этанола может быть связан с несбалансированным составом питательной среды либо с нецелевым использованием сахаров среды на рост популяции дрожжей или на эндогенный метаболизм.

Для исключения версии о нецелевом использовании сахаров в следующем опыте варьировали дозировку инокулята: 5, 10, 15 и 20 %. Использован гидролизат с концентрацией РВ 58 г/л, в который дополнительно вносился сульфат аммония в количестве 10 г/л. С повышением дозировки инокулята процесс брожения ускоряется: при дозировке 20 % брожение проходит за 24 ч, при 15 % и 20 % – через 3 суток, при 5 % половина РВ остаются несброженными (рис. 4). Численность клеток в процессе брожения не изменялась и соответствовала количеству дрожжей, внесенных с инокулятом –

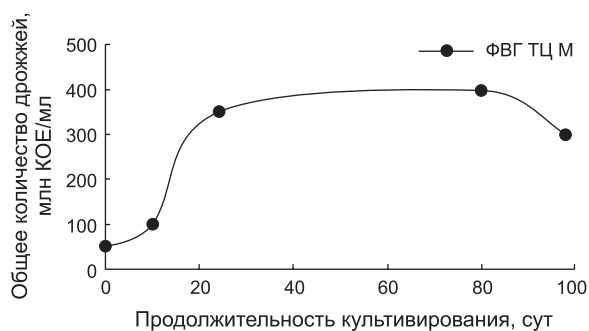


Рис. 2. Зависимость общего количества дрожжей от продолжительности культивирования на ферментативном водном гидролизате (ФВГ).

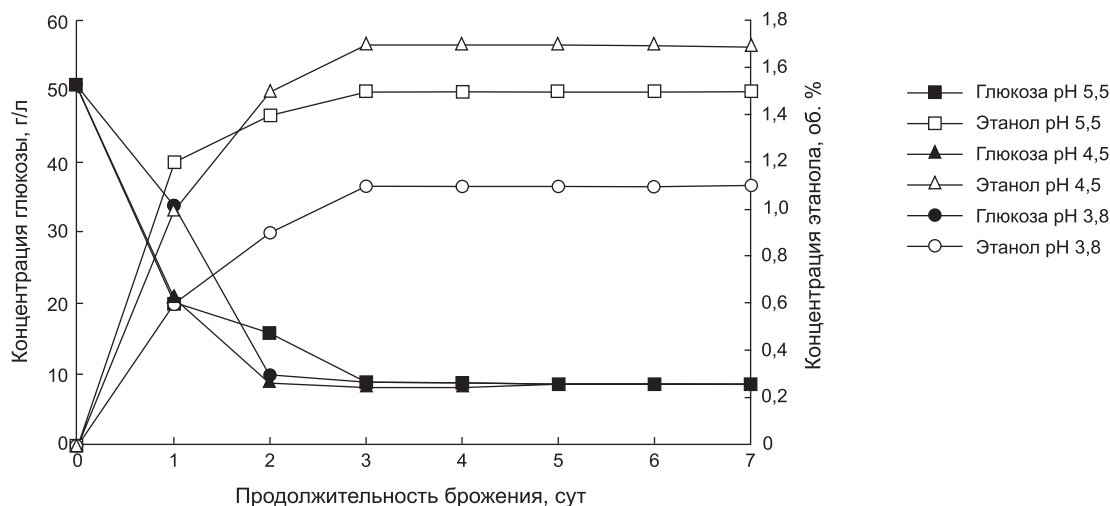


Рис. 3. Зависимость концентрации РВ и объемной доли этанола от продолжительности брожения при различной активной кислотности сред.

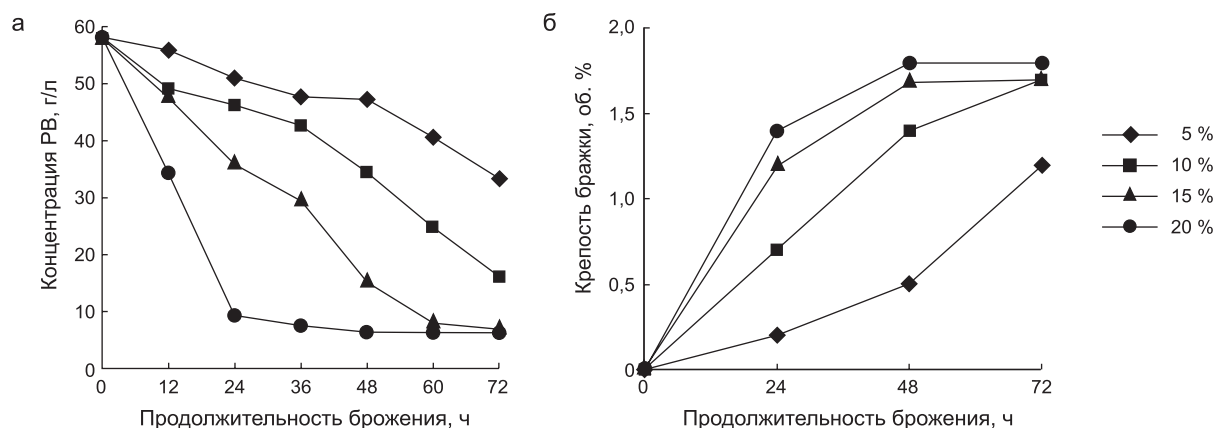


Рис. 4. Зависимость концентрации РВ (а) и объемной доли этанола (б) от продолжительности брожения при различной дозировке инокулята.

14 млн КОЕ/мл для дозировки инокулята 5 %; 28 млн КОЕ/мл – для дозировки 10 % и т. д. Это свидетельствует о недостатке в среде витаминов и аминокислот.

Таким образом, повышение дозировки инокулята приводит к повышению выхода этанола за счет использования ресурсов жизнеспособных клеток. Но при этом клетки не размножаются, а выход этанола низкий: 33, 46, 46 и 49 % в четырех вариантах соответственно, что также говорит о несбалансированности питательной среды.

Далее был проведен опыт с добавлением в среду 1 %-го сухого дрожжевого экстракта в качестве источника аминокислот и витаминов. Это позволило сократить продолжительность брожения до 24 ч при дозировке инокулята 5

и 10 % и до 12 ч – при дозировке 15 и 20 %. В процессе брожения численность дрожжей увеличивается приблизительно в два раза, а концентрация этанола в бражке повышается до 2,3 об. %, что соответствует 63 % от теоретического. Экономический эффект брожения составил 0,406. При сравнении показателей брожения на средах без добавления факторов роста (дрожжевого экстракта) и средах с их добавлением можно увидеть, что с внесением факторов роста выход этанола повышается на 14–33 % и уже не зависит от дозировки инокулята.

Таким образом, можно сделать вывод, что среда ферментативного водного гидролизата мискантуса не содержит технологически вредных примесей для жизнедеятельности дрож-

жей и спиртового брожения и не нуждается в дополнительных обработках для их удаления (перегонка под вакуумом для освобождения от фурфурола, фильтрование с углем и т. п.). Однако среда не является полноценной для метаболизма дрожжей, что можно исправить добавлением 1 % дрожжевого экстракта, при этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития.

Усредненные результаты анализа опытных образцов этанола, выполненного методом газожидкостной хроматографии, представлены в таблице в сравнении с нормативами на этиловый спирт-сырец из пищевого сырья (ГОСТ Р 52193-2003, 2003) и спирт этиловый технический (ГОСТ 17299-78, 1978).

В опытном образце объемная доля метанола крайне мала и составляет 0,0007–0,02 %, что меньше порога в 0,13 об. %, регламентированного для спирта-сырца из всех видов пищевого сырья (за исключением мелассы). Такие результаты можно объяснить исходным химическим составом сырья, так как в ТЦ мискантуса не было пентозанов, которые в процессе метабо-

лизма дрожжей могут синтезировать метиловый спирт.

Массовая концентрация сивушного масла в опытных образцах значительно ниже, чем в спирте-сырце из пищевого сырья (1602 мг/дм³ против 5000 мг/дм³), что можно объяснить отсутствием белков и пептидов в опытных гидролизатах ТЦ.

В опытном образце довольно высокая концентрация альдегидной фракции, а также в следовых количествах обнаружены ацетон, 2-бутанон, идентифицирующие этанол как непищевой (ГОСТ Р 51786-2001, 2001). Концентрация эфиров в опытном образце достаточно низка – соответствует требованиям спирта-сырца из мелассы. Так как очистка опытных образцов не производилась, то косвенно низкая концентрация эфиров может указывать на чистоту культуры дрожжей при брожении и благоприятные условия для биосинтеза этанола.

Приведенные в таблице результаты анализа примесей опытных образцов биоэтанола их мискантуса дают основания предположить, что после ректификации будет получен спирт высокого качества. Таким образом, ферментативный

Таблица

Содержание примесей в этиловом спирте из непищевого сырья и опытном образце биоэтанола из мискантуса

Образцы		Показатель			
		Массовая концентрация альдегидов в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Массовая концентрация сивушного масла в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Массовая концентрация эфиров в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Содержание метанола в пересчете на безводный спирт, об. %
Этиловый спирт-сырец из пищевого сырья	Спирт-сырец из всех видов сырья (за исключением мелассы) или их смеси	< 300	< 5000	< 500	0,13
	Спирт-сырец из мелассы	< 500	< 5000	< 700	–
Спирт этиловый технический	марки А ОКП 91 8213 1100	< 200	< 500	< 80	< 0,1
	марки Б ОКП 91 8213 1200	< 350	< 1000	< 180	< 0,1
Опытный образец биоэтанола из мискантуса	Этанол из ТЦ АС	700–1000	1600–2600	300–1100	0,0007–0,02

гидролиз целлюлозосодержащего сырья позволяет получать этанол с принципиально лучшими характеристиками, чем кислотный гидролиз.

По результатам представленной работы можно сделать следующие выводы:

1) дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамма ВКПМ У-1693 устойчивы к среде ферментативного водного гидролизата мискантуса, их хорошее морфологическое состояние указывает на отсутствие в средах вредных примесей, характерных для кислотных химических гидролизатов;

2) для биосинтеза этанола на среде ферментативного гидролизата ТЦ мискантуса оптимальной является нативная активная кислотность гидролизата – 4,5–4,7 ед. рН;

3) добавление 1 % дрожжевого экстракта позволяет сделать среду ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса полноценной, при этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития;

4) ферментативный способ гидролиза ТЦ мискантуса позволяет получать биоэтанол с низким содержанием эфиров и сивушных масел (установлено методом ГЖХ). Метанол в биоэтаноле из мискантуса отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Аблаев А.Р. Большая нефть и биотопливо // Биотехнология. 2011. № 3. С. 8–14.
- Агеев Л.М., Корольков С.И. Химико-технический контроль и учет гидролизного и сульфитно-спиртового производства. М.; Л.: Гослесбумиздат, 1953. 403 с.
- Будаева В.В., Гисматулина Ю.А., Золотухин В.Н., Сакович Г.В., Вепрев С.Г., Шумный В.К. Показатели качества целлюлозы, полученной азотнокислым способом в лабораторных и опытно-промышленных условиях из мискантуса // Ползунов. вестник. 2013. № 3. С. 162–168.
- Булаткин Г.А., Митенко Г.В. Перспективная энергетическая культура – мискантус китайский // Экол. вестн. России. 2013. № 7. С. 31–36.
- Гисматулина Ю.А., Будаева В.В. Химический состав российского мискантуса и качество целлюлозы, полученной из него // Химия в интересах устойчивого развития. 2013. Т. 21. № 5. С. 539–544.
- ГОСТ Р 51135-98-2003. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа. Технические требования. Введ. 1998-03-02. М.: ИУС, 2003. 116 с.
- ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. М.: Изд-во стандартов, 2001. 8 с.
- ГОСТ Р 52193-98-2003. Спирт этиловый-сырец из пищевого сырья. Технические условия. М.: Изд-во стандартов, 2005. 4 с.
- ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия. М.: Изд-во стандартов, 1978. 4 с.
- Кузнецова О.Ю. Современные аспекты развития биона- и/или нанобиотехнологии // Вестн. Казан. технол. ун-та. 2013. Т. 16. № 3. С. 156–163.
- Павлов И.Н. Установка для исследования биокаталитического превращения продуктов переработки недревесного сырья // Катализ в промышленности. 2014. № 1. С. 66–72.
- Скиба Е.А., Будаева В.В., Павлов И.Н., Макарова Е.И., Золотухин В.Н., Сакович Г.В. Получение ферментативных гидролизатов технических целлюлоз мискантуса и их спиртовое брожение // Биотехнология. 2012. № 6. С. 42–52.
- Шарков В.И., Сапотницкий С.А., Дмитриева О.А. Технология гидролизных производств. М.: Лесн. пром-сть, 1973. 408 с.
- Шумный В.К., Колчанов Н.А., Сакович Г.В., Пармон В.Н., Вепрев С.Г., Нечипоренко Н.Н., Горячковская Т.Н., Брянская А.В., Будаева В.В., Железнов А.В., Железнова Н.Б., Золотухин В.Н., Митрофанов Р.Ю., Розанов А.С., Сорокина К.Н., Слынько Н.М., Яковлев В.А., Пельтек С.Е. Поиск возобновляемых источников целлюлозы для многоцелевого использования // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2010. Т. 14. № 3. С. 569–578.
- Яровенко В.Л., Маринченко В.А., Смирнов В.А. Технология спирта. М.: Колос, 1999. 464 с.
- Brosse N., Sannigrahi P., Ragauskas A. Pretreatment of Miscanthus × giganteus using the ethanol organosolv process for ethanol production // Ind. Eng. Chem. Res. 2009. V. 48. P. 8328–8334.
- Jordan D.B., Bowman M.J., Braker J.D., Dien B.S., Hector R.E., Lee C.C., Mertens J.A., Wagschal K. Plant cell walls to ethanol // Biochem. J. 2012. No. 442. P. 241–252. DOI:10.1042/BJ20111922.
- Somerville C., Youngs H., Taylor C., Davis S.C., Long S.P. Feedstocks for lignocellulosic biofuels // Science. 2010. V. 329. P. 790–792.

BIOTECHNOLOGICAL VIEW OF ETHANOL BIOSYNTHESIS FROM MISCANTHUS

O.V. Baibakova, E.A. Skiba

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russia,
e-mail: ipcet@mail.ru, olka_baibakova@mail.ru

Summary

It is demonstrated that *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 yeast (RNCIM) is recalcitrant to aqueous enzymatic *Miscanthus* hydrolysate. Its good condition indicates that the media have no detrimental impurities characteristic of acid chemical hydrolyzates. Ethanol biosynthesis from enzymatic *Miscanthus* cellulose hydrolysate occurs best at native active pH 4,5–4,7 pH. Addition of 1 % yeast extract makes the medium of aqueous enzymatic hydrolyzate of *Miscanthus* cellulose complete. Moreover, in batch fermentation it is sufficient to introduce 10 % yeast inoculum in the log phase of growth. As shown by gas-liquid chromatography, enzymatic digestion of *Miscanthus* cellulose yields ethanol with low contents of esters and fusel oils. *Miscanthus* bioethanol is free of methanol.

Key words: *Miscanthus*, Soranovskii variety, enzymatic digestion, cellulose, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693, strain, bioethanol.

УДК 635.655:631.527:631.117.4(518)

ВКЛАД СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОПЫТНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ КИТАЙСКО-ВОСТОЧНОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГИ В ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СОИ ВИР И В РАЗВИТИЕ ЕЕ СЕЛЕКЦИИ В СССР

© 2014 г. И.В. Сеферова, М.А. Вишнякова

Государственное научное учреждение

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова
Российской академии сельскохозяйственных наук, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: i.seferova@vir.nw.ru

Поступила в редакцию 14 февраля 2014 г. Принята к публикации 29 августа 2014 г.

В 1920-х годах в сельскохозяйственных опытных учреждениях, работавших при Китайско-Восточной железной дороге (КВЖД), было собрано значительное количество местных сортов сои, возделываемых на территории Маньчжурии. В этих учреждениях проводили изучение собранного материала и создавали новые сорта. Из опытных станций КВЖД в коллекцию ВИР было передано более 3000 образцов этой культуры. В статье анализируются состав данного материала и результаты его селекционного использования в СССР.

Ключевые слова: соя, коллекция ВИР, Маньчжурия, КВЖД, селекция.

Массовые поступления в коллекцию сои ВИР, насчитывающую в настоящее время более 7 000 образцов, начались в 1921 г. Спустя 10 лет, в 1931 г., в коллекции было зарегистрировано уже более 3,5 тыс. образцов и основная их часть (более трех тысяч образцов) была получена с территории Маньчжурии – исторической области на северо-востоке Китая. Наличие в коллекции ВИР значительного числа образцов и сортов из Маньчжурии неоднократно отмечали в литературе (Момот, 1932; Енкен, 1959), но подробно их состав и история поступления в ВИР ранее никем не рассматривались.

Н.И. Вавилов (1962) называл сою важнейшим эндемом умеренной зоны Китайского очага Восточноазиатского центра происхождения культурных растений. Полагают, что domestикация сои в этом регионе произошла в период 3000–1000 лет до н. э. (Hymowitz, 1970). Китайский очаг охватывает территорию горного Центрального и Западного Китая с прилегающими к нему низменными районами страны (Вавилов, 1962) и не включает Северо-Восточный Китай. Непосредственно в Северо-Восточном Китае, в древности

заселенном кочевыми народами, начало развиваться возделывание сельскохозяйственных растений, и первые китайские земледельцы появились там в середине XVII в. (Hymowitz, 1970; Белоглазов, 2007). К началу XX в. соя широко возделывалась в Маньчжурии и была там представлена значительным разнообразием форм (Hymowitz, 1970). Описывая свою экспедицию в Корею, совершенную в 1929 г., Н.И. Вавилов писал: «... соя стала важнейшим техническим растением последних десятилетий. Под влиянием европейского и американского спроса огромные площади заняты соей. За последние два десятилетия посевы ее в Маньчжурии дошли до 7 млн га, а общая мировая площадь превысила 15 млн га» (Вавилов, 1980. С. 103).

Передача в создаваемый и руководимый Н.И. Вавиловым институт¹ образцов сельскохо-

¹ В 1923 г. он назывался Отделом прикладной ботаники и селекции Государственного института опытной агрономии (ОПБиС ГИОА), в 1924 г. на его базе был создан Всесоюзный институт прикладной ботаники и новых культур (ВИПБиНК), а в конце 1929 г. он был преобразован во Всесоюзный институт растениеводства (ВИР) (Лоскутов, 2009; Гончаров, 2012).

зяйственных культур от принадлежащих КВЖД учреждений активно происходила в 1920-е гг. Эта дорога, построенная Россией в Северо-Восточном Китае, явилась, по существу, продолжением Великого Сибирского пути (Транссибирской магистрали). Прокладка магистрали по территории другой страны позволила сократить ее на 500 верст относительно пути, проложенного по территории России, уменьшить количество горных работ и осуществлять строительство в более благоприятных климатических условиях. Полностью функционировать КВЖД начала в 1903 г., а после поражения России в войне с Японией (1904–1905 гг.) часть южной ветви от станции Куаньченцзы до порта Дальнего и Порт-Артура перешла под управление Японии и стала называться Южно-Маньчжурской железной дорогой (ЮМЖД) (Трунова, 2004). В данной статье мы избежим вопросов, касающихся политического и имущественного влияния на КВЖД России, Китая и других стран и многочисленных спорных событий и военных конфликтов, происходивших вокруг нее.

При КВЖД сельскохозяйственное производство велось местным китайским и приезжим русским населением и была организована сеть сельскохозяйственных опытных учреждений (Северная Маньчжурия..., 1922; Белоглазов, 2007). Значительную работу по оказанию земледельцам агрономической и технической помощи выполняли Земельный отдел КВЖД и созданное в 1912 г. Маньчжурское сельскохозяйственное общество (МСХО). Они проводили выставки, издавали журналы и пособия по сельскому хозяйству, вели большую практическую деятельность. Были созданы опытные поля, на которых демонстрировались лучшие сорта традиционных и новых для Китая сельскохозяйственных культур, агроприемы их возделывания и новая сельскохозяйственная техника. Эти поля обеспечивали земледельцев посевным и посадочным материалом, а также молодняком сельскохозяйственных животных и птицы. Первое опытное поле начало работать в Харбине в 1913 г. Позднее, в 1922 г., при Агрономической части Земельного отдела КВЖД было организовано три сельскохозяйственных центра с опытными полями при них: Харбинским опытным полем, опытным полем у железнодорожной станции Эхо (на восточной ветке дороги) и опытным по-

лем вблизи станции Аньда (на западной ветке) (Белоглазов, 2007). Возле станции Гунчжулин ЮМЖД с 1913 г. функционировала Гунчжулинская опытная станция, на которой работали японские специалисты (Накамото, 1926). Эта станция взаимодействовала с сельскохозяйственными учреждениями КВЖД, передавая им сортовые семена и сельскохозяйственных животных ценных пород (Белоглазов, 2007). На опытных полях были организованы изучение китайских, европейских, русских и американских сортов сельскохозяйственных культур и проведение селекционных работ с ними. При оценке и селекции зерновых культур проводились массовые химические анализы, изучалось влияние на качество сельскохозяйственных продуктов различных агроприемов, а также осуществлялась сравнительная оценка сортов при выращивании на разных опытных полях (Кузнецов, Врочинский, 1933; Белоглазов, 2007). Для организации различных научно-исследовательских работ в 1922 г. в Харбине было создано Общество изучения Маньчжурского края (ОИМК), в которое в 1927 г. вошло МСХО. В 1928 г. ОИМК практически перестало существовать, а с 1929 г. все исследования, относящиеся к селекционной работе, сосредоточились на Харбинском опытном поле, где был централизован фонд семенного материала, собранного на всех опытных полях, насчитывающий около 5 тыс. образцов различных культур (Скворцов, 1945; Белоглазов, 2007).

Разнообразие форм сои, сосредоточенное на опытных полях КВЖД, оценивалось по хозяйственным признакам и значимости и служило для ботанических исследований. На основе его изучения ботаник Б.В. Скворцов (1927) осуществил подробное морфологическое описание культурной сои (*Glycine max* (L.) Merr.) и охарактеризовал ее внутривидовую изменчивость. Кроме того, им был описан новый вид сои – *G. gracilis* Skvortsov.

Сельскохозяйственные центры КВЖД широко рассылали образцы разных культур селекционерам и научным работникам Китая, СССР и других стран (Белоглазов, 2007). В том числе несколько тысяч образцов было передано в научные и селекционные учреждения США, в основном через американских интродукторов П.Г. Дорсета и У.Дж. Морзе, проводивших

экспедиционные обследования Маньчжурии в 1920–1930-е гг. (Hymowitz, 1984; Белоглазов, 2007).

В коллекцию ОПБиС ГИОА первые образцы сои, происходящие с территории Маньчжурии, были переданы с проходившей в Москве в 1923 г. Всероссийской сельскохозяйственной и кустарно-промышленной выставки, на которую они были присланы из Харбина. В дальнейшем материал от сельскохозяйственных учреждений КВЖД поступал в ВИР как напрямую, так и через различные научные организации СССР. В 1925–1929 гг. образцы поступали с Харбинского и Андинского опытных полей, от МСХО, ОИМК и Агрономической части КВЖД. Но большая часть всех образцов была прислана с опытного поля на станции Эхо. Первые образцы с этого поля были переданы в 1923 г. его заведующим А.Д. Воейковым, последующие поступления осуществлялись в 1927 и 1929 гг. Последняя партия была передана работавшим при КВЖД селекционером И.В. Врочинским. Кроме того, значительное количество образцов сои было передано в ВИР в 1931 г. с опытной станции Синельниково Днепропетровской области Украины, на которую они были при-

сланы до 1929 г. с опытной станции Эхо от А.Д. Воейкова. Материал поступал также через Ботанический сад Владивостока, Дальневосточный институт земледелия, через Амурскую и Приморскую сельскохозяйственные опытные станции (СХОС).

Основную часть этих материалов составляли образцы культурной сои (*G. max*), а также имелись образцы полукультурной и дикой сои (*G. gracilis* и *G. soja* Siebold et Zucc.). Состав образцов культурной сои очень разнообразен и отражает направления работ, проводившихся на опытных полях КВЖД (сбор исходного материала, его изучение, проведение отборов, создание новых сортов). В большом количестве были переданы образцы, приобретенные на базарах и в крестьянских хозяйствах на территории Маньчжурии. Более чем для 1800 образцов из поступивших с опытного поля на станции Эхо есть информация, в каком населенном пункте они были первоначально собраны (рис.). Большим числом образцов представлен селекционный материал, созданный на всех опытных полях, а новые сорта сои отражают в основном результаты работы Харбинского опытного поля. Кроме того, в полученных в ВИР материалах

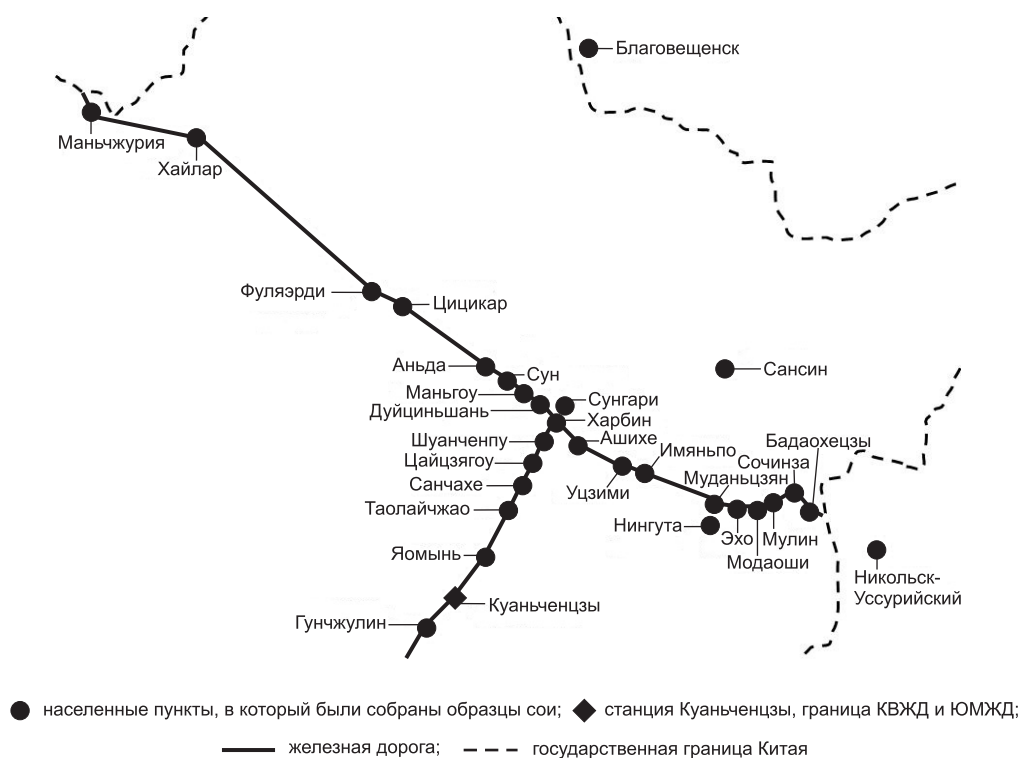


Рис. Схема Северо-Восточного Китая (составлена по «Карте Маньчжурии» (1901) и «Карте Дальнего Востока...» (1925)).

имелось несколько сортов сои из США, Кореи, Японии и Германии, а также образцы, происходящие с территории России (из Благовещенска и Никольск-Уссурийска).

Материал сои, присланный в ВИР с КВЖД, обладает значительным разнообразием. При изучении на опытных станциях ВИР и участках Госсортосети в нем были выявлены как скороспелые, так и позднеспелые формы, образцы зернового и кормового типов, а также формы с особо крупными семенами, имевшие овощное использование (Енкен, 1959; Корсаков, 1972). Некоторые сорта уже в 1930-х гг. были рекомендованы для возделывания в различных регионах СССР. Это были сорта, созданные на Харбинском опытном поле отборами из местных маньчжурских сортов (Харбинская 199, Харбинская 111, Харбинская 90, Харбинская 231-а, Харбинская 118, Харбинская 199-в), в том числе созданные селекционером В.В. Крушулем (Крушуля 9/3, Крушуля 10/10), а также сорт Гунчжулинская, созданный на Гунчжулинской опытной станции. Рекомендовались для использования в СССР и сорта сои, созданные в США на основе поступлений из Маньчжурии: Manchu, Mandarin, Mansoy, Wilson (Момот, 1932).

К 1931 г. ряд сортов сои (Харбинская 111, Харбинская 231, Харбинская 199-в, Крушуля 9/3) были улучшены в сельскохозяйственных НИУ СССР и районированы. В том же году Приморской СХОС был районирован сорт Гунчжулинская 529, созданный из исходного материала, полученного в 1925 г. с Гунчжулинской опытной станции. В 1949 г. он был переименован в сорт Приморская 529, после чего возделывался под этим названием до 2008 г., т. е. почти 80 лет (Сорта сои СССР, 1981; Государственный реестр..., 2008). Образцы сои Гунчжулинской опытной станции представляли собой отборы из местного сорта Сы-ли-хуан, первоначально собранного в крестьянском хозяйстве возле Гунчжулина и показавшего лучшую урожайность при сравнении с другими местными сортами. После деления сорта Сы-ли-хуан на множество чистых линий было создано несколько новых сортов (Накамото, 1926). В свое время на опытном поле при железнодорожной станции Эхо производили посевной материал гунчжулинских улучшенных соевых бобов (Воейков, 1933).

В последующем на основе образцов, происходящих из Маньчжурии, в СССР был создан еще ряд сортов: Кубанская 276 (районирован в 1938 г.), Уссурийская 29 (в 1942 г.), Кубанская 4958 (в 1950 г.), Днепропетровская 12 (в 1958 г.), Высокостебельная (в 1966 г.). Маньчжурские образцы использовали как компоненты гибридных комбинаций при создании таких сортов, как Смена, Янтарная, ВНИИС 2, Аврора, Приморская 494, Юбилейная, Ланка, Гибридная 670, ВНИИСК 1, Черновицкая 2. Из них возделывается до настоящего времени сорт Смена, районированный в 1972 г. Больше других в межсортных скрещиваниях использовали сорт Приморская 529 (Гунчжулинская) (Сортовое районирование..., 1940, 1954; Сорта сои СССР, 1981; Государственный реестр..., 2014).

Активное селекционное использование образцов, поступивших из Северо-Восточного Китая, определялось не только тем, что в их составе выявлялись высокопродуктивные формы, но и наличием в этом материале источников устойчивости к различным болезням, вредителям и другим неблагоприятным факторам. В многочисленных исследованиях, проводимых как в СССР, так и в других странах, среди происходивших из Маньчжурии образцов неоднократно выявлялись устойчивые формы (Нумовитц, 1984; Щелко, 1995). Согласно Н.И. Вавилову (1986), высокая вероятность выявления иммунных форм имеется в регионах многовекового возделывания культуры. Поэтому вполне естественно, что местные сорта сои Маньчжурии, возникшие непосредственно на основе сортов, сформировавшихся в центре происхождения культуры, несут в себе гены устойчивости.

Образцы сои из Маньчжурии оказались подходящими для интродукции культуры в СССР, так как географическая широта и климат, к которым они были приспособлены, были близки к условиям южных районов страны как на Дальнем Востоке, так и в ее европейской части. Хотя Н.И. Вавилову не удалось провести масштабные экспедиционные сборы в Китае², передача образцов сои из учреждений КВЖД

² Из экспедиции в Западный Китай (провинцию Синьцзянь), проведенной в 1929 г. Н.И. Вавиловым и М.Г. Поповым, было привезено только 12 образцов сои. Из экспедиции в Японию, Корею и на о. Формоза (Тайвань), предпринятую Н.И. Вавиловым в том же году, им привезено еще 85 образцов сои.

в значительной степени компенсировала и обеспечила ценным исходным материалом селекционные организации СССР.

К настоящему времени в коллекции сои ВИР сохранилось только около 300 образцов из описываемых материалов. Великая Отечественная война привела к большим утратам, так как из-за перерыва в регулярных посевах многие образцы утратили всхожесть. Такие утратившие жизнеспособность образцы сохраняются в ВИР только в виде «оригиналов» (первоначально поступивших семян).

От учреждений КВЖД в ВИР приходил материал не только сои, но и других сельскохозяйственных культур, включающий как образцы, собранные в Маньчжурии, так и российские, европейские и американские сорта. По данным отдела интродукции ВИР, институтом были получены образцы зерновых (пшеница, кукуруза, просо, сорго, рис, овес), зернобобовых (фасоль, бобы, горох, маш), овощных и бахчевых (огурцы, перец, дыня, арбуз), плодовых и орехоплодных культур (яблоня, слива, миндаль, лещина), а так-же кормовых трав, льна, декоративных древесных и кустарниковых растений. Но самыми большими были партии семян сои. Особый интерес к сое может объясняться тем, что эта культура являлась аборигенной для Китая и была представлена там значительным разнообразием форм. Кроме того, ее экономическое значение во всем мире уже было осознано, что определяло потребность в сортах и исходном материале для селекции.

Таким образом, сельскохозяйственные учреждения Китайско-Восточной железной дороги сыграли существенную роль не только в экономическом развитии Северо-Восточного региона Китая, но и в создании и распространении новых сортов сельскохозяйственных растений для различных регионов СССР. Особую роль эти учреждения сыграли в развитии селекции и производства сои в СССР. Пополняя коллекцию ВИР образцами в то время новой для страны культуры, они способствовали формированию пула исходного материала для селекции. Целый ряд сортов, созданных на основе материала, присланного из опытных учреждений КВЖД, возделывался в течение десятилетий, составляя основу производства сои в стране. Многие сорта, имеющие в ро-

дословной образцы, поступившие из опытных учреждений КВЖД, и в наши дни активно вовлечены в селекционный процесс. Происходя из региона, близкого к центру происхождения сои, они несут в себе информацию о формировании данной культуры. В настоящее время, когда обеднение генетической основы используемых в производстве сортов становится проблемой, особо актуально обращение селекционеров к местным сортам, имеющим разнообразный спектр генов. Поэтому сорта народной селекции, собранные и сохраненные в коллекции ВИР, еще многократно будут использоваться как при создании новых сортов, так и в научных исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

- Белоглазов Г.П. Русская земледельческая культура в Маньчжурии (середина XVII–первая треть XX вв.). Владивосток: Дальнаука, 2007. 184 с.
- Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции (Учение об исходном материале в селекции): Избр. тр. Т. 2. М.; Л.: Наука, 1962. С. 21–70.
- Вавилов Н.И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям. М.: Наука, 1986. 519 с.
- Вавилов Н.И. Пять континентов. Л.: Наука, 1980. 214 с.
- Воейков А.Д. Из поездки по Нингутинскому уезду // Вестн. Маньчжурии. 1933. № 22. С. 11–27.
- Гончаров Н.П. Экспедиции Н.И. Вавилова // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 3. С. 560–578.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. Москва: Гос. комис. Рос. Федерации по испытанию и охране селекц. достижений, 2008. 276 с.
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. М.: Гос. комис. Рос. Федерации по испытанию и охране селекц. достижений, 2014. 456 с.
- Енкен В.Б. Соя. М.: Сельхозгиз, 1959. 624 с.
- Карта Дальнего Востока: Дальневосточная область с прилегающими частями Восточной Сибири, Якутской АССР, Монголии и Маньчжурии / Сост. Междувед. комис. по изданию карт при Дальплане. Хабаровск: Изд-во Дальне-Восточной областной плановой комиссии, 1925. 22 л. карт.
- Карта Маньчжурии. Дополнительные планы гг. Цицикара, Мукдена, Гирина и др. / Сост. Л. Бородовский. СПб.: Канцелярия министра финансов, 1901. 1 л. карт.
- Корсаков Н.И. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 96. Соя. Л., ВИР, 1972. 116 с.
- Кузнецов С.И., Врочинский И.В. Влияние среды на изменчивость содержания жира и белка маньчжурских соевых бобов // Вестн. Маньчжурии. 1933. № 22. С. 81–110.
- Лоскутов И.Г. История мировой коллекции генетических ресурсов растений в России. СПб.: ГНЦ РФ ВИР, 2009. 294 с.

- Момот Я.Г. Апробация сои в СССР. Л.: Ин-т растениеводства, 1932. 110 с.
- Накамото Я. Работы Гунчжулинской опытной станции по улучшению сортов соевых бобов // Вестн. Маньчжурии. 1926. № 7. С. 73–80.
- Северная Маньчжурия и Китайская Восточная железная дорога / Сост. Экон. бюро Китайск. Вост. ж. д. Харбин, 1922. 733 с.
- Скворцов Б.В. Дикая и культурная соя Восточной Азии. (Краткий ботанический очерк). Харбин, 1927. 18 с. (О-во изучения Маньчжурского края. Сер. Д; вып. 22).
- Скворцов Б.В. К истории Общества изучения Маньчжурского края и созданного им музея (1922–1945) // Изв. Харбинского краеведческого музея. Харбин, 1945. № 1. С. 53–56.
- Сорта сои СССР. Каталог–справочник. Новосибирск: Сиб. отд-ние ВАСХНИЛ, 1981. 126 с.
- Сортовое районирование зерновых культур, подсолнечника, сои, люцерны и клевера на 1940 год. М.: Сельхозгиз, 1940. 118 с.
- Сортовое районирование сельскохозяйственных культур на 1954 г. М.: Сельхозгиз, 1954. 424 с.
- Трунова И.А. Китайско-Восточная железная дорога // Страницы истории железнодорожного транспорта России: Сб. тр. СПб.: Центр. музей ж.-д. трансп. МПС России, 2004. С. 85–107.
- Щелко Л.Г. Соя // Теоретические основы селекции. Т. 3. Генофонд и селекция зерновых бобовых культур. СПб.: ВИР, 1995. С. 196–322.
- Hymowitz T. On the domestication of the soybean // *Econom. Bot.* 1970. V. 24. No. 4. P. 408–421.
- Hymowitz T. Dorsett-Morse soybean collection trip to East Asia: 50 year retrospective // *Econom. Bot.* 1984. V. 38. No. 4. P. 378–388.

ROLE OF AGRICULTURAL INSTITUTIONS OF CHINESE-EASTERN RAILWAY IN THE FORMATION OF THE SOYBEAN COLLECTION AT THE VAVILOV INSTITUTE OF PLANT INDUSTRY AND ITS BREEDING IN THE USSR

I.V. Seferova, M.A. Vishnyakova

N.I. Vavilov All-Russia Institute of Plant Industry, Saint-Petersburg, Russia,
e-mail: i.seferova @ vir.nw.ru

Summary

In 1920s, agricultural research institutions (experimental stations) working at the CER collected many local Manchurian soybean varieties. The experimental stations tested the collected material and raised new cultivars. More than 3000 soybean accessions were submitted to the Vavilov Institute of Plant Industry. The article describes this material and its significance for breeding in the USSR.

Key words: soybean, Vavilov Institute collection, Manchuria, Chinese Eastern Railway, breeding.

УДК 02:631.116.94 (571.61)

НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ ВАВИЛОВ НА АМУРСКОЙ ОБЛАСТНОЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ

© 2014 г. О.О. Клеткина, В.Т. Синеговская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Всероссийский научно-исследовательский институт сои, Благовещенск, Россия,
e-mail: olgaorestovna@inbox.ru; valsino9@gmail.com

Поступила в редакцию 25 августа 2014 г. Принята к публикации 1 сентября 2014 г.

В статье представлены сведения об академике Н.И. Вавилове, посетившем в 20-е годы XX века Амурскую областную сельскохозяйственную опытную станцию, созданную на базе Амурского опытного поля, расположенную на территории конно-почтовой станции Озерки, ныне село Садовое Тамбовского района Амурской области. В этом году исполняется 105 лет со дня основания Амурского опытного поля (ныне ФГБНУ ВНИИ сои).

Ключевые слова: Н.И. Вавилов, В.А. Золотницкий, Амурская областная СХОС, соя, селекция.

О жизни и научной деятельности выдающегося ученого генетика, селекционера, ботаника, академика Николая Ивановича Вавилова опубликовано множество книг, очерков, статей как в России, так и за рубежом. Но мало кому известны сведения о его пребывании в 1929 г. на Дальнем Востоке России, о посещении им Амурской областной сельскохозяйственной опытной станции (СХОС), созданной на базе Амурского опытного поля, и встречах с основоположником селекции и семеноводства сои в Приамурье Всеволодом Александровичем Золотницким (1891–1963), работавшим с 1926 г. на СХОС (с. Садовое Тамбовского района Амурской области). В этом году исполняется 105 лет со дня образования Амурского опытного поля (ныне ФГБНУ ВНИИ сои).

Первое знакомство Н.И. Вавилова с В.А. Золотницким было заочным. Читая научные журналы, Николай Иванович обратил внимание на публикацию селекционера с Дальнего Востока, заинтересовался его работой и по этому поводу написал письмо В.А. Золотницкому (Золотницкая, 1967).

В июле–августе 1929 г. Н.И. Вавилов вместе с ботаником М.Г. Поповым совершили путешествие в северо-западную часть Китая –

округ Синьцзян. Экспедиция была связана с изучением особенностей возделывания сельскохозяйственных культур. После завершения обследования Западного Китая Н.И. Вавилов один (без спутников) направился в Японию, Корею и на о. Формозу (ныне о. Тайвань), проездом посетив Дальний Восток и Амурскую опытную станцию. В своем дневнике он писал: «28 сентября. Завтра на Амуре. От основной линии на пару дней в Благовещенск. Затем Хабаровск и Владивосток. Числа 8–10 надеюсь тронуться в Японию. Штудирую литературу. Из трех пудов 1 пуд завтра кончу» (Резник, 1968; Гончаров, 2012. С. 570).

О встрече с Вавиловым в своих показаниях от 28 мая 1938 г. В.А. Золотницкий пишет: «Осенью 1929 года Наркомзем направил в Дальневосточный край комиссию по обследованию опытного дела и, насколько помню, земледелия вообще. Комиссия в составе председателя Дояренко, профессора Чаянова, сотрудника ПКЗ Еровченко (партийный). Других членов комиссии не помню. В работе комиссии должен был принять участие и академик Вавилов...» (Токарев, 1991. № 45. С. 3). Надо сказать, что, как и Н.И. Вавилов, российские ученые-опытники А.Г. Дояренко (профессор ТСХА,

агрофизик) и А.В. Чаянов являлись сторонниками организации системы исследовательских институтов сельскохозяйственной академии (Елина, 1995).

В конце сентября 1929 г. В.А. Золотницкий получил записку от Н.И. Вавилова. (В то время у В.А. Золотницкого своей квартиры в Благовещенске не было и вместе с женой Марией Иосифовной он проживал в доме брата, поэтому Вавилов нашел его не сразу.) В записке Николай Иванович писал, что выехал на загородное отделение Амурской опытной станции, очень торопится и просил Всеволода Александровича туда приехать. Золотницкий сразу же выехал на «американке» и застал Вавилова еще на барже на перевозе. Николай Иванович сообщил ему о том, что он проездом из Западного Китая в Японию и знакомство с Дальневосточным краем решил начать с Амурской области, а комиссия под руководством А.Г. Дояренко поехала сначала в Приморье.

На Амурской областной СХОС Н.И. Вавилов пробыл около трех дней. На второй день приезда в Благовещенск Николай Иванович и Всеволод Александрович совершили поездку по окрестностям станции. Заезжали в колхо-

зы и единоличные крестьянские хозяйства, в которых Н.И. Вавилова особо заинтересовали местные зимостойкие плодовые деревья. Посетили и корейский колхоз. Об этом В.А. Золотницкий пишет: «Здесь на корню были еще специфические корейские салатные растения, не известные в Европе, а также соя. Вавилов высказывал удивление перед богатством амурских земель и широкими возможностями развития полеводства, селекции, садоводства, был поражен большим разнообразием форм в одном посеве, что подтверждало его теорию о центрах происхождения культурных растений. Это заняло почти все время, поэтому другие разделы станции Вавилов осмотрел бегло» (Токарев, 1991. С. 3) (рис. 1).

О встрече с Н.И. Вавиловым жена Всеволода Александровича Мария Иосифовна Золотницкая вспоминает: «Как сейчас помню: уже в конце рабочего дня Всеволод Александрович привез Николая Ивановича, и когда они вошли в лабораторию, то перед нашими глазами предстал человек среднего роста крепкого телосложения. Во всей его ладно скроенной фигуре чувствовалась неиссякаемая энергия и стремительность. Одет был на редкость скром-



Рис. 1. Николай Иванович Вавилов с коллективом Амурской областной СХОС, осень 1929 г. Из архива ВНИИ сои, г. Благовещенск.

но и просто: в светлый дорожный плащ, серую фетровую шляпу, синий костюм, клетчатую ковбойку и красный шерстяной джемпер. ... Николай Иванович Вавилов не был блестящим оратором, – вспоминает Мария Иосифовна, – но голос его удивительно приятного тембра и простота речи надолго запоминались каждому. Во время своих приездов он останавливался у нас. Все дни они с Всеволодом Александровичем проводили или в поле, или в поездках по ближайшим хуторам, в единоличные хозяйства, тогда еще оставшиеся на Амуре. Вечерами же Николай Иванович не устал рассказывать нам о своих замечательных интересных путешествиях – Вавилов побывал в 50 странах мира, объездил 5 континентов, рассказчик он был удивительный – мы же готовы были слушать его без конца. Очень часто он повторял свое любимое выражение: “Жизнь коротка, надо спешить”. Всеволод Александрович постоянно чувствовал к себе внимание великого ученого, и это помогало ему в работе. Он дал мужу много ценных советов» (Золотницкая, 1967. С. 2).

После Благовещенска Н.И. Вавилов планировал поехать на Приморскую опытную станцию, а затем во Владивосток, где должен был сесть на пароход, идущий в Японию. В этой стране, по его словам, он хотел ознакомиться с культурными растениями и получить в порядке обмена или закупить сорта сельскохозяйственных культур. Главное внимание было обращено на скороспелые сорта риса и цитрусовых (лимоны, апельсины и др.), пригодные для возделывания в зоне российских субтропиков.

«“Мне хотелось поехать с Вавиловым в Приморье, – пишет Золотницкий, – так как совместный осмотр культур с селекционером и специалистом по мобилизации растительных ресурсов мирового масштаба мог дать мне многое. С другой стороны, и я мог помочь Вавилову разобраться в дальневосточном материале по культурным растениям. Дирекция станции меня не пустила, так как в те же числа на Амурскую опытную станцию должен был приехать Дояренко. Дирекция сочла неудобным, что при работах комиссии не будет присутствовать один из заведующих отделами, хотя Вавилов сказал, что считает отдел селекции проверенным.

Вскоре я получил от Вавилова телеграмму, что комиссия задерживается во Владивостоке,

а он такого-то числа выезжает с Приморской опытной станции во Владивосток, тем более что Вавилов перетягивал меня директором Дальневосточного отделения Института растениеводства. Во время поездки в Китай Вавилов был избран первым Президентом Академии сельскохозяйственных наук им. Ленина.

Во Владивостоке был ряд совещаний с участием работников университета и агрономов. Меня пригласили в качестве представителя Амурской области. Вопросы касались преимущественно реорганизации опытных учреждений. Помню впечатление, переданное академиками от посещения (они были в разное время) Уссурийского отделения географического общества в г. Никольск-Уссурийск, которым заведовали супруги Федоров и Алисова. Дояренко был в восторге и считал, что это редкостная культурная точка, которую надо поддерживать средствами Наркомзема. Вавилов считал, что там сплошная халтура, но они могут «подметки на ходу срезать», поэтому надо это учреждение реорганизовать или закрыть. На собрании студентов университета во Владивостоке Н.И. Вавилов сделал доклад по растениеводству и мобилизации сортов богатств мира. Известный исследователь и писатель В.К. Арсеньев провел экскурсию по музею”. Во Владивостоке В.А. Золотницкий пробыл 4 дня и после отъезда Н.И. Вавилова вернулся в Благовещенск. Комиссия Наркомзема осталась во Владивостоке, а затем поехала на Приморскую опытную станцию» (Токарев, 1991. № 46. С. 3).

После экспедиции в Японию Н.И. Вавилов вернулся в Приморье. Здесь он ознакомился с работой местных ученых, полевыми культурами края; посетил опытные поля; провел совещание с научными работниками, посвященное организации Дальневосточной опытной станции Института прикладной ботаники и новых культур (позже ВИР). Передал в дар библиотеке Приморского филиала Географического общества СССР свою книгу «Земледельческий Афганистан» с автографом. В результате поездки в Приморский край по инициативе Вавилова и на основании Постановления ВАСХНИЛ (протокол № 17 от 30 декабря 1929 г.) была создана Дальневосточная опытная станция ВИР (Хисамутдинов, 2013).

Однажды, находясь в отпуске в Ленинграде, супруги Золотницкие решили пополнить селекционный материал из коллекции Института прикладной ботаники и новых культур. И когда они впервые пришли в этот храм науки, то были встречены Николаем Ивановичем Вавиловым с распростертыми объятиями: «Вот и появились, наконец, мои дальневосточники!». Марию Иосифовну поразило тогда то, что он не только запомнил имя, отчество Всеволода Александровича (они переписывались), но также и ее. Вообще, по словам Всеволода Александровича, Николай Иванович обладал феноменальной памятью, которая удерживала все до мельчайших подробностей.

В дальнейшем каждый отпуск Всеволода Александровича и Мария Иосифовна обязательно бывали в Ленинграде и много времени посвящали мировой коллекции растений. Во Всесоюзном институте растениеводства Н.И. Вавилов показывал им специализированные отделы для хранения мировых растительных ресурсов. Коллекция, собранная Н.И. Вавиловым, уникальна, как Эрмитаж или Третьяковская галерея. Золотницкие пополняли селекционный материал для Амурской областной сельскохозяйственной опытной станции растениями из мировой коллекции, наиболее подходящими для условий амурской поймы, подбирали образцы. Во время этих поездок Всеволод Александрович подолгу беседовал с Николаем Ивановичем в стенах института (Токарев, 1991. № 46. С. 3).

Хочется отметить, что Золотницкого, как и Вавилова (Вавилов в 1917–1930 гг. «связан» с ТКП), обвиняли в том, что он является участником антисоветской организации «Трудовая крестьянская партия», которая имела руководящий центр, состоящий из работников опытной станции. В начале марта 1938 г. В.А. Золотницкого арестовали (следственное дело № 431, обвинение в преступлениях по ст. 58-7 и 58-10 УК РСФСР), он был уволен с работы (Приказ Амурской государственной селекционной опытной станции № 45 от 14 марта 1938 г.: «Заместителя директора по научной части В.А. Золотницкого за необеспеченность научного руководства и дезорганизаторские действия во взаимоотношениях, направленные к срыву работы на станции, уволить с 15 марта 1938 г.»). В своих показаниях В.А. Золотницкий пишет о том,

что он получил от академика Вавилова копию письма американского профессора Маколей с просьбой прислать образцы семян сои. В связи с незнанием порядка обмена несколько образцов сои было послано сотрудниками Амурской опытной станции в Ленинград, в адрес Всесоюзного института растениеводства с просьбой направить семена в Америку профессору Маколей (Клеткина, 2012).

Более 19 месяцев Золотницкий находился в тюрьме и был оторван от научной деятельности, в то время как сорта его селекции уже успешно районировались в Дальневосточном крае. Сразу после его освобождения Н.И. Вавилов, узнав о положении Всеволода Александровича, предложил ему несколько мест на западе страны и в Сибири. Однако грянувшая Великая Отечественная война задержала Всеволода Александровича на Дальнем Востоке. В июне 1941 г. он с семьей переехал в Хабаровск, поступил на работу в Дальневосточный научно-исследовательский институт земледелия и животноводства, где продолжил свою научную работу.

Н.И. Вавилов не только поддерживал селекционное дело на Дальнем Востоке России, но и способствовал его развитию. Благодаря собранной им и его сотрудниками мировой коллекции растений, селекционеры Амурской областной сельскохозяйственной опытной станции создавали отечественные сорта сои, приспособленные к возделыванию в суровых природно-климатических условиях Дальнего Востока. В работе «Сорта сои Амурской области», в которой наметилось основное направление в селекции Амурской области – подбор исходного материала, В.А. Золотницкий писал: «В Амурской области имеется богатый материал местных скороспелых форм. Местные сорта не только показали хорошие результаты по отношению к другим сортам, но и по качеству урожая они конкурируют с урожаями из других, даже более южных районов. По содержанию жира и протеина местные сорта Амурской опытной станции дают хорошие результаты – 20 и 45 % соответственно. Задачей ближайшего времени должно быть установление и разработка экотипов сои. Это, с одной стороны, приблизит нас к построению естественной классификации сои, а с другой – даст большую продуктивность в практической селекционной работе» (Золотницкий, 1929. С. 11). Наиболее ценными для

производства являются три популяции сои Амурской опытной станции: желтая, черная и бурая (рис. 2, 3).

В 1930 г. Н.И. Вавилов пригласил дальневосточного селекционера В.А. Золотницкого на курсы по селекции, генетике и семеноводству при Всесоюзном институте растениеводства в Ленинграде, после окончания которых результатом селекционной работы Всеволода Александровича стал первый сорт сои Амурская желтая популяция, полученный путем массового отбора семян сои, произраставшей в Благовещенском районе. В этом же году методом индивидуального отбора из местной коллекции Тамбовского района Амурской области были получены еще два урожайных и приспособленных к местным

условиям сорта сои Амурская 41 и Амурская 42 (Малыш, 1963).

Под руководством В.А. Золотницкого выведением новых высокоурожайных сортов зерновых культур весьма успешно занимался Яков Михайлович Одноконь (автор известного сорта яровой пшеницы Амурская голоколоска), работавший в 1930-е годы на Амурской областной СХОС. Задачей отдела селекции этой станции в первую очередь являлось улучшение отборного сорта путем выделения чистых линий. В результате изучения мировых коллекций были подобраны пригодные для Амура урожайные сорта пшеницы: Лютесценс 062, эритроспермум АГ-061, Гарнет, Штрубэ, Альбидум, Мильтурум и др. (Селекция пшеницы ..., 1936).



Рис. 2. Очистка семян сои, 1928 г. Из архива ВНИИ сои.



Рис. 3. Посев сои на Амурском опытном поле, 1930 г. Из архива ВНИИ сои.

Селекционеры Амурской государственной селекционной станции К.К. Малыш, Т.П. Рязанцева, Л.К. Малыш, используя сорта сои северного экотипа, созданные В.А. Золотницким, вывели новые высокопродуктивные сорта Салют 216 (работа над созданием сорта была начата В.А. Золотницким), Юбилейная, Амурская 310, Янтарная, ВНИИС 1, ВНИИС 2, Аврора, Рассвет и другие, адаптированные к местным почвенно-климатическим условиям Дальнего Востока.

Значимость вклада Н.И. Вавилова в создание мировой коллекции растений, которая и сейчас пополняется его последователями, неоспорима. Использование генофонда в селекции культурной сои не только не снижается, а наоборот резко возрастает. Его наследие огромно, идеи плодотворно используются и развиваются многими научными учреждениями России, в том числе и Всероссийским научно-исследовательским институтом сои (ВНИИ сои).

Ведущие селекционеры ВНИИ сои Н.Д. Фоменко, Г.Н. Беляева, Е.Н. Мельникова, Н.С. Слободяник и другие продолжают эстафету ученых Амурского опытного поля, создавая новые скороспелые, холодостойкие, устойчивые к болезням и высокоурожайные сорта сои. Наиболее используемыми в производстве являются сорта Грация, Соната, Лидия, Гармония, Даурия, Лазурная, МК 100, Нега 1, Персона (Технологии ..., 2011), отвечающие современным требованиям растениеводства и позволяющие улучшить сортимент этой ценной культуры. Во ВНИИ сои сохраняется на постоянной основе специфический генофонд культуры, включающий более 2000 тыс. коллекционных образцов.

БЛАГОДАРНОСТИ

При написании статьи использованы данные архивного фонда Всероссийского научно-исследовательского института сои (г. Благовещенск Амурской области), библиотеки (с. Садовое Тамбовского района Амурской области).

ЛИТЕРАТУРА

- Гончаров Н.П. Экспедиция Н.И. Вавилова // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 3. С. 560–578.
- Елина О.Ю. Сельскохозяйственные опытные станции в начале 1920-х гг.: Советский вариант реформы // Вопросы истории и естествознания. 1995. № 1. С. 40–63.
- Золотницкая М.И. Жизнь, оставившая след // Амурская правда (Благовещенск). 1967. 18 мая. С. 2.
- Золотницкий В.А. Сорта сои Амурской области (из работ отдела селекции Амурской областной сельскохозяйственной опытной станции). 1929. ВНИИ сои. Арх. № 41, на 23 листах. Л. 13.
- Клеткина О.О. Основоположник селекции и семеноводства в Приамурье (о жизни и деятельности ученого-селекционера В.А. Золотницкого). Благовещенск: ООО «Типография». 2012. 32 с.
- Малыш К.К. Сделано селекционерами // Амурская правда (Благовещенск). 1963. 20 апреля. С. 2.
- Резник С.Е. Николай Вавилов. М.: Мол. гвардия, 1968. 336 с. (сер. «Жизнь замечательных людей»).
- Селекция пшеницы (раздел: селекционное сортоиспытание): отчет промежуточный // Амурская областная сельскохозяйственная опытная станция; рук. Я.М. Одноконов, В.А. Золотницкий. Благовещенск. 1936. Арх. № 229, на 25 листах. Л. 5, 19.
- Технологии и комплекс машин для производства зерновых культур и сои в Амурской области / В.А. Тильба, В.Т. Синеговская, А.Н. Панасюк, М.М. Присяжный и др. Благовещенск: ООО «Агромакс-Информ», 2011. 134 с.
- Токарев В. Процент удачи: Документальная повесть // Амурская правда (Благовещенск). 1991. 4 и 5 марта. № 45, 46. С. 3.
- Хисамутдинов А.А. Вавилов Николай Иванович // Три столетия изучения Дальнего Востока: (Материалы к библиографии исследователей). Вып. 1 (1639–1939). Владивосток, 2007. С. 122–123.

**NIKOLAI IVANOVICH VAVILOV
AT THE AMUR AGRICULTURAL EXPERIMENTAL STATION**

O.O. Kletkina, V.T. Sinegovskaya

All-Russia Soybean Research Institute, Blagoveshchensk, Russia,
e-mail: olgaorestovna@inbox.ru; valsln09@gmail.com

Summary

The article describes the visit of Academician N.I. Vavilov to the Amur agricultural experimental station in 1920s. The station was located at the site of the former Ozerki postal station, presently Sadovoe Village, Tambov raion, Amur oblast. In this year, the Amur experimental station (presently All-Russia Soybean Research Institute) celebrates its 105th anniversary.

Key words: N.I. Vavilov, V.A. Zolotnitsky, Amur agricultural experimental station, soybean, breeding.

УДК 575.8

ДЭВИД ЛЭК: ДВЕ ВЕРСИИ ВИДООБРАЗОВАНИЯ, ИЛИ ОТ НЕЙТРАЛИЗМА К АДАПТАЦИОНИЗМУ

© 2014 г. Я.М. Галл

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники
им. С.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Yasha@GJ7549.spb.edu

Поступила в редакцию 3 марта 2014 г. Принята к публикации 13 августа 2014 г.

В статье рассмотрено формирование двух ведущих концепций видообразования, созданных британским орнитологом и экологом Дэвидом Лэком (1910–1973) в 40-е гг. XX столетия. Показано, какими путями Лэк почти одновременно создал две совершенно разные версии видообразования. Особенное внимание уделено анализу эволюционных идей в книге Лэка «Дарвиновы выюрки». Представлена система доказательств, что Лэк явился не просто создателем современной эволюционной экологии, но, без сомнений, принадлежит к основоположникам эволюционного синтеза.

Ключевые слова: вид, географическое видообразование, эколого-географическое видообразование, Дэвид Лэк, Эрнст Майр, Георгий Францевич Гаузе, Александр Николаевич Формозов.

Нет какого-либо доказательства того, что на каком-либо острове формы *Geospizinae* обладают различиями, которые имеют адаптивное значение.

(Lack, 1945a. P. 117) (пер. Я.Г.).

Моя точка зрения сейчас полностью изменилась, я со всей силой оценил принцип Гаузе – два вида со сходной экологией не могут жить в одном регионе.

(Lack, 1947. P. 62) (пер. Я.Г.).

Дэвид Лэк (1910–1973) по праву является крупнейшим биологом-эволюционистом. Его еще называют отцом эволюционной экологии, применившим эволюционный синтез к полевой экологии. Но такое определение понижает вклад Лэка в эволюционный синтез. Его книга 1947 г. «Дарвиновы выюрки» (Lack, 1947) сыграла огромную роль в формировании эволюционного синтеза, но удивительно то, что никто из создателей эволюционного синтеза не упомянул имя Лэка. Лэк самым реальным образом осуществил синтез генетики, экологии и теории естественного отбора. Но самое главное состоит в том, что синтез Лэка был осуществлен не на уровне микроэволюции, а в процессе изучения видообразования. Национальная Академия наук США создала специальный демонстрационный

зал, где изображен весь процесс видообразования у выюрок Галапагоса, по модели Лэка. Лэк изучал видообразование у эндемичной группы непевчих воробьиных птиц Галапагосских островов. И его исследования до сих пор служат лучшим доказательством видообразования в природе.

Лэк – автор многих замечательных трудов по орнитологии, экологии и эволюционной теории. В годы второй мировой войны он входил в группу по испытаниям радара, и именно этот опыт помог ему создать радарную орнитологию.

Жизненный путь Лэка можно проследить по ряду публикаций (Thorpe, 1974; Anderson, 2013). В зоологической библиотеке Оксфордского университета хранится рукопись Лэка объемом 26 страниц, на которых он кратко изложил свою

творческую жизнь. В рамках статьи освещается лишь небольшой отрезок многогранной деятельности Лэка, но этот период, быть может, самый важный в научной жизни ученого.

ВЗГЛЯДЫ НА ВИДООБРАЗОВАНИЕ В XX в.

В 1982 г. Э. Майр очень точно охарактеризовал современную концепцию вида, акцентируя внимание не только на генетических аспектах видообразования, но и на экологии вида и видообразования (Mayr, 1982. Р. 274–275) и широко оценил исследования Лэка: «Дэвид Лэк был человеком, который внес наибольший вклад в понимание экологического значения вида (Lack, 1944, 1947). *Интересно сравнить его эволюционную интерпретацию размера клюва у различных видов вьюрков Галапагоса* (пер. и курсив Я.Г.). В ранней статье (1945 г., написанной около 1940 г.) он интерпретировал размер клюва как специфический видовой сигнал, т. е. как изолирующий механизм. В более поздней книге Д. Лэк интерпретировал размер клюва как адаптацию к специфической видовой трофической нише, и именно эта интерпретация подтверждается многими исследованиями. Репродуктивная изоляция и нишевая специализация (конкурентное исключение) являются, таким образом, просто двумя сторонами одной монеты, или единого процесса видообразования. И лишь в одном случае, когда репродуктивная изоляция не может быть использована в качестве критерия вида, а именно в случае асексуальных форм, критерий создания экологической ниши приобретает самостоятельное или единственное значение» (Mayr, 1982. Р. 274–275) (пер. Я.Г.).

Майр ясно показал, как произошел синтез концепции репродуктивных изолирующих механизмов и концепции экологической ниши и кто осуществил этот синтез. Но каким образом все это произошло и какое место закон Гаузе занял в этом новом синтезе? Из каких личных наблюдений и литературных источников выросла двухступенчатая модель видообразования Лэка? Не менее важный вопрос состоит в том, как Д. Лэк сумел организовать экспедицию на Галапагос, ведь это требовало немалых денег.

Концепция географического видообразования стала особенно популярной и даже

доминирующей после публикации трудов Ф. Добржанского и особенно Э. Майра.

Книга Ф. Добржанского 1937 г. сыграла исключительную роль в развитии эволюционной теории и генетики. Но ни одна из работ по теоретической и экспериментальной экологии популяций не цитируется в книге. Наряду с естественным отбором он отметил важную роль генотипического дрейфа в дифференциации так называемых микрогеографических рас. Он писал, что случайные изменения генных частот являются наиболее вероятным источником в образовании микрогеографических рас (Dobzhansky, 1937. Р. 148). Микрогеографические расы часто представляют собой малые изолированные популяции, обитающие на островах тропиков. Это позволяло натуралистам и генетикам популяций широко использовать генотипический дрейф при изучении причин формирования таких рас и новых видов.

В книге «Систематика и происхождение видов» Э. Майра (Mayr, 1942) была развита современная концепция географического видообразования. Суть концепции состоит в следующем: если дочерние популяции находятся в условиях полной географической изоляции, то между ними прекращается поток генов. Популяции адаптируются под действием естественного отбора или изменяются под действием генотипического дрейфа к новым экологическим условиям и приобретают различия в морфологии, физиологии и репродукции. Репродуктивные изолирующие механизмы формируются случайно и побочно как результат различий, которые популяции приобрели в условиях географической изоляции. Если же популяции приходят в контакт или образуют зону перекрывания ареалов, то никаких процессов не происходит. Исследователь просто получил контрольную ситуацию и может уверенно утверждать, что изолированные популяции достигли ранга видов. В этом суть географической модели видообразования. Правда, еще не было прямых доказательств географического видообразования, основанного на генетике и эволюционном синтезе. Но логика, основанная на популяционном подходе и теориях естественного отбора и генотипического дрейфа, убедила многих натуралистов и генетиков в широком распространении в природе такого

способа образования видов. Так выглядели взгляды на видообразование в эволюционной теории и генетике перед экспедицией Лэка на Галапагос.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ. ЗАМЕТКИ К БИОГРАФИИ

Что же за человек был Дэвид Лэк, сумевший совершить блистательную экспедицию на Галапагос, а главное, получить результаты исследований, которые легли в основу принципиально важных воззрений на видообразование, пожалуй, в самой трудной области эволюционной теории?

Дэвид Лэк был самым старшим из четырех детей Харри Лэмберт Лэка. «Lack» в Восточной Англии пишется как «Lock». Родственники Харри Лэка с двух сторон были арендными фермерами и жили очень скромно в Норфолке, но Харри имел хирургическую практику при лондонском госпитале. В детстве он проявлял интерес к птицам, но этот интерес быстро прошел. Так что интерес Дэвида, скорее всего, возник независимо. Отец Дэвида женился, когда ему было уже более 40 лет. Жена, Кэтлин Райнд, была дочерью Макнейла Райнда, служившего в Индии. Она также жила на очень скромные средства. Ее отец по происхождению был шотландец, но отец ее матери был ирландцем, а ее бабушка в замужестве была за греком.

До его 15 лет семья жила в многонаселенном доме в Дэвоншире, части Лондона. Отец работал практически весь день и имел несколько каникулярных дней, поэтому Дэвид проводил с отцом мало времени. С матерью он также мало общался, так как та была занята работой. Дети чаще общались с сестрой матери, которая не была замужем, она была профессиональной певицей. Она и две овдовевшие бабушки собирали детей на длительные каникулы (в период с 1920 г. по 1928 г.) в прекрасном доме 17-го столетия с 4 акрами сада в районе Кента, где Дэвид изучал своих любимых птиц. Но его любовь к птицам началась, когда ему исполнилось 9 лет.

После подготовительных школ Лондона Дэвид в возрасте 14 лет поступил в самую либеральную школу Норфолка. В Норфолке его интерес к птицам становится доминантным, все каникулы и свободные часы в школе он проводил

за наблюдениями птиц, и его орнитологический интерес быстро прогрессировал. Уже в школе он провел оригинальные исследования по обыкновенному козодю. Молодой Лэк установил, что у козодоя не один, как это было написано в книгах, а два выводка. После окончания школы он подготовил свою первую статью в «British Birds» на эту тему (Lack, 1930). Он решил, что должен быть зоологом, хотя авторитетные люди ему говорили, что невозможно сделать карьеру в орнитологии без экспедиций.

Дэвид очень рано начал думать об эволюции птиц, прочитав в 15-летнем возрасте популярную книгу Уильяма Пайкрафта. Другие же аспекты естественной истории интересовали его мало. В 18-летнем возрасте на него сильное впечатление оказали статьи Джулиана Хаксли об уходе за птицами, особенно статья 1914 г. о церемониях у большой поганки. В последний год обучения в школе он становится секретарем и редактором школьного общества по естественной истории и начинает читать свои первые лекции. Первую лекцию для взрослой аудитории он прочитал в возрасте 19 лет, вскоре после окончания школы. Лекция была прочитана в Лондоне и она была посвящена обыкновенному козодю. В 1929 г. Дэвид провел летние месяцы в Германии, где он изучал немецкий язык, птиц и посещал концерты классической музыки.

Дэвид поступил в колледж Магдалины в Кембридже в возрасте 19 лет и сразу же начал наблюдения за местными птицами. В студенческие годы Дэвид был заметным членом Кембриджского клуба птиц. Он уже начал интересоваться популяционными проблемами, большое влияние на него оказали книги Дж.Б.С. Холдейна «Причины эволюции», он также был под большим влиянием статьи Рональда Фишера «Эволюция доминирования». В это же время он опубликовал две полезные статьи о местах размножения европейского обыкновенного козодоя: одна упомянутая выше, а другая в апрельском номере журнала «Ibis» за 1932 г. (Lack, 1932).

Другое важное событие произошло в 1933 г. Дэвид опубликовал статью по биотопическому отбору (habitat selection) у птиц, которая была результатом его наблюдений, выполненных вместе с L. Venable, о воздействии Бреклендского лесонасаждения на воздушную фауну (Lack, 1933). Именно в Кембриджском регионе

Д. Лэк приобретал непосредственный полевой опыт орнитолога, что позволило ему создать небольшую, но ценную книгу «The Bird of Cambridgeshire», опубликованную кембриджским клубом птиц в 1934 г. (Lack, 1934). К концу кембриджского периода он становится знатоком литературы по поведению птиц; труды Э. Ховарда, Дж. Селоу. К этому времени Лэк оценил значение большого по объему литературы и вместе с отцом опубликовал статью «Territory reviewed» (Lack D., Lack L., 1933).

В 1933 г. Д. Лэк стал учителем зоологии, и это был правильный выбор. Он был свободен в своих планах и действиях. Все это способствовало его исследованиям в начале его карьеры орнитолога. В течение 1933–1934 гг. в летнее время Лэк путешествовал в Танганику и по Калифорнии, где установил близкие контакты с Р. Мореау и с американскими орнитологами, включая Э. Майра. С Майром у него сложились дружеские отношения, повлиявшие на его дальнейшую работу, особенно в период написания первых работ по вьюркам Галапагоса. В 1937 г. Лэк начал изучать проблему территориальности у дрозда, которой он посвятил целый год, и сравнивал территориальное поведение у группы родственных видов. В 1939 г. он продолжил исследовать жизнь дрозда, делая акцент на исследовании жизненных циклов и поведения. Эта интереснейшая работа завершилась публикацией небольшой книжки в 1943 г. (Lack, 1943). В это время они постоянно общаются, Джулиан Хаксли становится его покровителем. Эта связь оказалась чрезвычайно важной, так как Хаксли вселял в молодого орнитолога веру в успех и в то же время был строгим критиком. Главное, Хаксли нацеливал молодого исследователя на проблемы поведения и экологии, что было редким явлением в британской орнитологии. Большинство орнитологов работало в фаунистическом плане и с музейными образцами. В то время было всего несколько орнитологов, которые публиковали полевые наблюдения, включая наблюдения по экологии птиц. Это были любитель Р. Мореау в Восточной Африке, а также профессионалы Н. Тинберген в Голландии, Дж. Гринелл в Калифорнии, К. Лоренц в Австрии. Ч. Элтон был выдающийся натуралист, но он не работал с птицами.

Д. Лэк первым изучил африканских ткачиковых, но его планы изменились после прочтения статьи П. Лове в «Ibis» за 1936 г. о вьюрках Галапагоса (Lowe, 1936). Его мечтой стало путешествие на Галапагосские острова с целью изучить эту интереснейшую эндемичную группу воробьиных, интерес к которой все возрастал с того момента, как Ч. Дарвин открыл эту группу птиц, а знаменитый орнитолог Дж. Гулд мастерски провел классификацию. Но Дарвин ни разу не упомянул вьюрков в «Происхождении видов». Он просто не видел в них доказательства для своей теории эволюции. Коллекция Дарвина птиц Галапагоса была небольшой – всего 64 экземпляра. Из них вьюрки составляли 31 экземпляр (Галл, 1984, 1987). Но острова после Дарвина стали особенно притягательны для орнитологов, которые были постоянными участниками всех островных экспедиций.

Дж. Хаксли настоятельно советовал Д. Лэку принять участие в экспедициях и еще в 1937 г. содействовал в получении Лэком грантов от Лондонского Королевского общества и Зоологического общества Лондона на научное путешествие на Галапагосские острова. Он настоятельно советовал Лэку изучить видовые различия между близкородственными видами вьюрков. Хаксли хорошо понимал, что подобная тематика выдвигается на первый план в области изучения механизмов и путей видообразования и в этой области еще нет добротного материала. 3 ноября 1938 г. Д. Лэк вместе с географом и фотографом отправился на экспедиционном судне на Галапагос и находился там до апреля следующего года. С апреля по август 1939 г. в Калифорнийской академии наук он изучал огромную коллекцию вьюрков, собранных академией на основе нескольких экспедиций, а также посетил Музей зоологии позвоночных Калифорнийского университета. Для каждого образца он измерял длину крыльев и размер клюва, описал половую принадлежность, окраску оперения и место в коллекции. Д. Лэк измерил почти 6400 образцов, включая 180 образцов вьюрков с о. Кокос и первые экземпляры вьюрков, собранных Дарвином в 1835 г.

Во время пребывания в США Лэк навестил Э. Майра в Нью-Джерси. Этот визит оказался чрезвычайно полезным, так как два орнитолога имели возможность обсудить экспедиционный

материал, собранный Лэком во время путешествия, и провести диспут по общим проблемам орнитологии и теории эволюции. Беседы с Майром определили первую версию видообразования у вьюрков. Дискуссия между Лэком и Майром по поводу различий в размерах клюва у вьюрков проходила при доминировании Майра. В своем письме к Дж. Хафферу от 4 ноября 2002 г. Майр писал, что различия в размерах клюва, как он думал, были изолирующими механизмами между видами, и это одобрил Лэк в своей первой публикации (1945). Но Дэвид предложил экологическое (и корректное) объяснение в своей последней книге «Дарвиновы вьюрки (1947)» (цит. по: Haffer, 2008. Р. 80). Благодаря рекомендациям Майра, Лэк изучил коллекции вьюрков, которые находились в Американском музее естественной истории. В музее Лэк также измерил около 100 домашних воробьиных и написал короткую статью о географических вариациях у видов, обитающих в Северной Америке, произошедших в течение первых 90 лет после того, как они были завезены на континент.

ВИДООБРАЗОВАНИЕ В ТРАДИЦИИ ЭВОЛЮЦИОННОГО СИНТЕЗА

В сентябре 1939 г. Лэк возвратился на родину и сразу же приступил к работе над книгой под названием: «Вьюрки Галапагоса. Изучение вариации» (Lack, 1945a), изданной Калифорнийской Академией наук. Столь длительная задержка публикации большой рукописи Лэка связана с второй мировой войной, ведь рукопись была закончена уже в мае 1940 г. Лэк быстро оценил ситуацию и в сжатом виде опубликовал короткую статью в журнале «Nature» (Lack, 1940). Монография была основана не только на 4-месячной полевой работе Лэка на Галапагосе, но также, что не менее важно, на измерениях крыльев и клювов образцов. Основываясь главным образом на этих измерениях, Лэк сделал некоторые модификации в таксономии и обсудил процесс видообразования в этой группе. Но по названию работы видно, что он сосредоточился на вариации у вьюрков.

Некоторые виды птиц, широко распространенные на архипелаге, на островах демонстрировали отчетливые различия в клюве. Сопоставляя эти данные с доминирующим представлением,

что подвидовые различия у других видов птиц носят неадаптивный характер и, главным образом, вызываются генотипическим дрейфом, он заключил, что доказательства в пользу того, что различия между островными формами каждого вида *Geospizinae* имеют адаптивное значение, отсутствуют (Lack, 1945a. Р. 116).

Критика адапционизма в книге 1945 г. была довольно жесткой. Д. Лэк ссылаясь на Дарвина, согласно представлениям которого на разных островах естественный отбор будет благоприятствовать разным формам, и не согласился с его утверждением (Lack, 1945a. Р. 117). Заключение Д. Лэка относительно гипотезы Дарвина о вариации на островах как важнейшей основы в образовании новых рас было резким: он утверждал, что доказательства в пользу предположения Дарвина не существует. Фактически не существует доказательства того, что на каком-либо острове формы *Geospizinae* обладают адаптивными различиями или, точнее, что различия между формами носят адаптивный характер (Lack, 1945a. Р. 117).

Лэк безоговорочно принял концепцию географического видообразования и признал основное значение «эффекта Райта» в дифференциации подвидов и видов. В монографии Лэка имеется раздел под названием «Функция межвидовых различий в размерах клюва» (Lack, 1945a. Р. 119–121). Но ни о каких экологических функциях речи нет. Лэк писал, что подобно другим видам, близкородственные виды *Geospizinae* отличаются, главным образом, в размерах клюва и менее отличаются в размерах тела. Не существует доказательств того, что эти различия связаны каким-либо образом с различиями в потребляемой пище, способе ее добычи или различиями в образе жизни видов (Lack, 1945a. Р. 119). Д. Лэк целиком принял концепцию географического видообразования и репродуктивных изолирующих механизмов. Свой вклад в эту теорию Лэк видел в том, что он высказал предположение о том, что различия в размерах и форме клюва у вьюрков представляют собой часть репродуктивных изолирующих механизмов, так как служат фактором узнавания представителей одного вида. Лэк писал, что различные виды узнают друг друга, главным образом, путем различий в клюве и так поддерживается их обособление (Lack, 1945a. Р. 120).

Лэк ничего не написал о роли естественного отбора в процессах видообразования. Но он вынес благодарности Э. Майру и С. Райту, с которыми он обсуждал рукопись или делился с изложенными в рукописи идеями.

Это дает нам право заключить, что Лэк стремился подтвердить концепцию репродуктивных изолирующих механизмов и географическую модель видообразования, созданные Ф. Добржанским и Э. Майром (подробнее см.: Колчинский, 2006; Конашев, 2011). В первой эволюционной версии видообразования Д. Лэка речь не идет ни о каком синтезе генетики, экологии и систематики. Экология популяций и видов просто отсутствует. Концепцию Лэка еще можно назвать нейтралистской, так как генотипическому дрейфу он отводил решающую роль в видообразовании.

Но ко времени публикации рукописи в 1945 г. взгляды Лэка полностью изменились. По существу, это была настоящая драма идей.

ДРАМА ИДЕЙ, РАСШИРЕНИЕ ЭВОЛЮЦИОННОГО СИНТЕЗА

В течение военного времени (1940–1945 гг.) Лэк служил в армейской группе оперативных исследований, где вместе с энтомологом и орнитологом Дж. Ворли испытывал радарные установки на предмет проверки сигналов: перед началом второй мировой войны несколько радарных станций было построено на юге Англии для того, чтобы защитить страну от вражеского вторжения с воздуха и моря. Система расширялась и продвинулась на юго-восток Англии. По оснащению эти первые радары были не схожи с современными. Отметим, что они не могли отделить эха, идущего от интересующего объекта, от эха птиц. К счастью, член Королевского общества лейтенант Фердинанд Шонлэнд (Ferdinand Schonland) (1896–1972) из армейской группы оперативных исследований, который в это время отвечал за эти исследования, пригласил в 1940 г. Дэвида Лэка, который принял предложение поработать в группе на условиях вольнонаемного. Именно Лэк оказался тем человеком, который был способен установить, что основная часть эха вызывается летящими птицами. Лэк работал так много, что буквально метался между полевыми радарными станция-

ми, чтобы везде успеть. Приглашение было послано и известному энтомологу и знатоку птиц Джорджу Ворли. Именно он получил в Довере в сентябре 1941 г. первое ясное доказательство, что птицы являются реальным источником эха. Лэк и Ворли подружились еще в Оксфорде, и их дружба, творческое взаимопонимание продолжались на протяжении всей жизни. Дж. Ворли позднее стал одним из самых знаменитых профессоров Оксфордского университета (Fox, Beasley, 2010). О творческом содружестве этих двух замечательных ученых можно судить и по тому факту, что в 1944 г. они организовали Пасхальную встречу в Британском экологическом обществе, чтобы обсудить значение закона Гаузе для развития экологии и теории эволюции. Это знаменательное событие стало важной вехой в развитии теории эволюции и экологии.

Благодаря регулярному длительному сну по 8–9 часов в сутки Лэк выработал у себя необычайно большую концентрацию в работе, что и позволило ему закончить работу над книгой «Жизнь дрозда» в 1942 г. (Lack, 1943). Он сразу же начал работу над новой книгой о галапагосских вьюрках. В новой книге и в статье 1944 г., о которых речь будет идти позднее, была произведена полная переоценка всего материала по Галапагосам и воробьиным Британии под углом зрения закона Гаузе о конкурентном вытеснении и условиях сосуществования близкородственных видов. Он закончил рукопись книги в 1944 г., издательство Кембриджского университета опубликовало ее лишь в 1947 г. (Lack, 1947; Галл, 1984).

Как все произошло и почему такие важные открытия не состоялись ранее, ведь работы советского биолога Г.Ф. Гаузе по конкуренции у простейших были опубликованы в виде монографий в середине 30-х гг. XX столетия на английском и французском языках (Gause, 1934, 1935; Галл, 2012). Кроме того, в это же время вся экспериментальная часть книг Гаузе была опубликована в английских и американских экологических журналах. Разумеется, подобные книги и статьи не могли пройти мимо Д. Лэка. Причина состоит в том, что, по-видимому, он не был готов ни в научном плане, ни психологически к восприятию принципиально новых идей в экологии, получивших подтверждение в рамках строгого эксперимента. Натурализм Д. Лэка, как

и большинства натуралистов того времени, был слишком далек от строгих экспериментов. Но ведь в книге Гаузе «Борьба за существование» (The Struggle for Existence) (Gause, 1934) была связка между экспериментальным изучением межвидовой конкуренции и изучением роли конкуренции в дифференциации экологических ниш у близкородственных видов, сосуществующих вместе. Пожалуй, самое важное состоит в том, что «новый натурализм», впервые появившийся в книге Г. Гаузе 1934 г., был основан именно на орнитологическом материале. Это произошло следующим образом. Когда в 1932 г. Гаузе закончил экспериментальную часть работы, встал вопрос, как использовать принцип конкурентного исключения в природных ситуациях. Он обратился за советом к своему учителю В.В. Алпатову. Ответ энтомолога был таков: «Таким материалом я не обладаю». И вдруг Алпатов сказал: «Георгий Францевич, пожалуйста, обратитесь к русскому Сетон-Томпсону, Александру Николаевичу Формозову, он как широкий полевой зоолог может Вам оказать помощь» (личн. сообщ. Гаузе). Гаузе поднялся в кабинет Формозова и после длительной мозговой атаки получил отрицательный ответ. И вдруг, когда Гаузе уже уходил из кабинета, Формозов вспомнил случай, который он видел на берегу Черного моря. Четыре вида крачек образуют большую колонию, но каждый вид питается на разном расстоянии от берега и состав пищи у них разный. Гаузе выразил искреннюю благодарность именитому натуралисту. Эти наблюдения А.Н. Формозова над крачками вошли в книгу Г. Гаузе 1934 г. в качестве доказательства действия конкуренции в направлении экологического обособления близкородственных видов. Более того, материалы Формозова были изложены рядом с трактовкой трофической ниши Ч. Элтона. Гаузе при интерпретации наблюдений Формозова фактически создал концепцию пространственно-трофических ниш. Ресурс и местообитание, ранее рассматриваемые как самостоятельные проблемы, оказались в одной теме. Этот исследовательский аспект был очень важен для Лэка. Когда Гаузе осмысливал натуралистический материал под углом зрения конкурентного исключения видов, то создал и новый натурализм в изучении экологии близкородственных видов. Эта связка между экспери-

ментом и новым натурализмом могла оказаться решающей в интеллектуальной революции Д. Лэка. Правда, все сказанное требует простых и убедительных доказательств.

21 марта 1944 г. в Лондоне Британское Экологическое общество провело ежегодную Пасхальную встречу, чтобы обсудить проблему близкородственных видов. Подзаголовок темы встречи звучал еще так: значение закона Гаузе для полевой экологии.

Лэк впервые представил доклад о видообразовании у вьюрков Галапагоса. Он обсудил процессы, которые идут в зоне перекрывания ареалов у близкородственных популяций, находившихся в условиях географической изоляции друг от друга и от родительского вида. Для анализа ситуаций он впервые применил закон Гаузе. Между контактирующими популяциями будет идти конкуренция за ресурсы и местообитания и, чтобы избежать конкуренции, популяции должны создать собственные пространственные или трофические ниши или пространственно-трофические ниши. Естественный отбор будет действовать в направлении экологического обособления зарождающихся видов и одновременно элиминировать гибриды с пониженной жизнеспособностью. Иначе говоря, все, что было «недоработано» естественным отбором или генотипическим дрейфом в условиях географической изоляции благодаря конкуренции между зарождающимися видами, «дорабатывается» естественным отбором в условиях перекрывания ареалов. Реальная дивергенция зарождающихся видов очень часто проходит в зонах перекрывающихся ареалов. Чарльз Элтон и Джордж Ворли поддержали Д. Лэка в том, что принцип конкурентного исключения имеет огромное значение для понимания структуры сообществ животных. В то же время именитые специалисты в области изучения млекопитающих и насекомых практически не обсуждали эволюционный аспект в исследованиях Лэка. Дж. Ворли сделал очень важные замечания, он отметил, что интенсивность конкуренции зависит от действия других факторов (абиотических, хищничества), воздействующих на смертность. Эти факторы свое действие сильнее всего проявляют на континентах. Конкуренцию лучше всего изучать на тропических островах, где отсутствуют

хищники и эволюция идет по линии пищевой специализации конкурентов. Другие известные ученые, например Дж. Дайвер и Дж. Блэкман, на растительном и животном материале резко критиковали закон Гаузе и в целом математический и экспериментальный подходы в экологии. Суть критики можно свести к следующему: «в природе все иначе». Сильное впечатление произвело изложение Дайвером большого фактического материала, иллюстрирующего сосуществование близкородственных видов. Но Г. Гаузе не рассматривал систематическую близость в качестве мерила интенсивности конкуренции. Дальнейшие скрупулезные исследования по экологии близкородственных видов показали, что исключения из закона Гаузе являются мнимыми (см. Галл, 1979).

На симпозиуме 1944 г. еще не был преодолен интеллектуальный антагонизм между экспериментаторами и натуралистами. Но именно на этом симпозиуме такие выдающиеся натуралисты, как Д. Лэк и Ч. Элтон, изложили пути приложения теоретико-экспериментальных схем для решения кардинальных проблем экологии и эволюции. Была намечена область сотрудничества, с одной стороны, представителей разных ветвей экологии, а с другой – экологов и эволюционистов-систематиков, биогеографов и генетиков (Anonymous, 1944; Harvey, 1945).

В статье 1944 г. Лэк не только изложил новую концепцию видообразования у вьюрков Галапагоса, но и дал общий обзор экологии воробьиных (Lack, 1944). Обзор Д. Лэка однозначно свидетельствует о том, что большинство близких видов занимают различные местообитания или области, однако те из них, которые встречаются совместно в одном и том же местообитании, обычно отличаются друг от друга по биологии питания, а также часто по размерам, в том числе по величине и форме клюва. Во многих случаях известно, что различия в клюве связаны с различиями в пище, и такая корреляция, по всей вероятности, носит общий характер, поскольку трудно представить себе, каким иным способом близкие виды могли бы избежать конкуренции (Lack, 1944. Р. 274). К этому в книге 1947 г. Лэк добавил, что особенно важным представляется то обстоятельство, что если два близких вида отличаются друг от друга по общим размерам и по величине клюва, то они часто встречаются

в одном и том же местообитании, тогда как среди близких видов, занимающих различные местообитания, подобные заметные различия в размерах встречаются редко (Lack, 1947. Р. 62).

Интересно, что в списке литературы к статье 1944 г., ссылаясь на книгу Гаузе 1934 г., он отметил в ней 18–20-ю страницы как самые, по-видимому, для него важные. Там Гаузе изложил концепцию ниши Элтона в своей трактовке в связи с принципом конкурентного вытеснения или сосуществования близкородственных видов. Гаузе особенно акцентировал внимание на наблюдениях А.Н. Формозова над крачками, которые давали ключ к пониманию процессов в любой группе птиц. О значении указанных страниц свидетельствует следующая цитата: «Главный тезис этой статьи – осветить концепцию экологической ниши (Elton, 1927). Я раньше не понимал, насколько фундаментален этот принцип в контроле отношений между близкородственными видами птиц. Основное обсуждение будет связано с Гаузе (1934), который ясно показал, что два вида животных с одинаковыми экологическими потребностями не могут жить в одном ареале. При чтении этого положения много очевидных исключений у диких птиц может прийти на ум, и я первоначально предположил, что заключение Гаузе может быть верным лишь для искусственно простых условий лабораторных культур микроорганизмов. *Однако логика концепции и экспериментов Гаузе, по-видимому, неотвратима, и более внимательное исследование показывает, что опровержение взглядов Гаузе, связанное с экологическим перекрыванием, является только кажущимся, но не реальным*» (Lack, 1944. Р. 274) (пер. и курсив Я.Г.). Лэк воспроизвел наблюдения Формозова в том виде, в каком они изложены в книге Гаузе. Формозов никогда не публиковал свои наблюдения над крачками, но сохранились дневники с его записями, которые однозначно подтверждают роль великого натуралиста в развитии экологической теории. Дневники А.Н. Формозова очень тщательно проанализированы сыном Формозова и одним из создателей современной экологии Эвелином Хатчинсоном (Hutchinson, Formozov, 1989).

В «Американском орнитологическом журнале» 1944 г. Майр отметил важность утвержде-

ния о том, что репродуктивная изоляция сама по себе недостаточна, чтобы два вида сосуществовали. Они должны развить определенные экологические различия, занимать несходные местообитания или различаться в потребляемой пище, например. Все это предотвращает конкуренцию друг с другом. Очень часто бывает перекрывание в потребляемой пище или в местообитании, но такое перекрывание никогда не бывает полным (Мауг, 1944. Р. 224).

Возникает вполне законный вопрос, когда Лэк познакомился с книгой Гаузе 1934 г., которая, можно сказать, произвела революцию в его экологическом и эволюционном мышлении?

Знаменитая книга «Дарвиновы вьюрки» (Lack, 1947) и краткая рукописная автобиография, которая хранится в зоологической библиотеке Оксфордского университета, однозначно свидетельствуют о том, что в течение 1943–1944 гг. Лэк нашел время для написания настоящей книги по вьюркам, поставив себе целью дать более широкую разработку эволюционных проблем. Пересмотр первоначального материала совершенно неожиданно заставил его заметно изменить взгляды на межвидовую конкуренцию и на различия в размерах клюва у вьюрков. Развитие новой точки зрения послужило одной из основных тем книги. *Мне странно, что вещи, кажущиеся сейчас очевидными, ускользнули от моего внимания четыре года назад* (Lack, 1947. Р. 6) (пер. и курсив Я.Г.). О каких вещах идет речь? Лэк дал однозначный ответ. Необходимо было обсудить проблему вида и видообразования с точки зрения экологии и надо было искать источники, где были бы совершенно новые вещи.

В краткой автобиографической заметке, помещенной в его книге «Экологическая изоляция у птиц», Д. Лэк писал: «В 1942 г. Майр впервые обосновал аллопатрическое видообразование, и его взгляды постепенно были приняты. В том же году Хаксли написал, что различия в размерах между близкородственными видами птиц означают экологическую изоляцию. В 1943 г., когда я переосмысливал эволюцию Дарвиновых вьюрков, я скомбинировал эти точки зрения и постулировал, что два хорошо отличимых подвида с достаточными генетическими различиями, предотвращающими свободное скрещивание, могут сохраняться в том же самом ареале

лишь при условии, что они также достаточно отличаются в экологии. Это не позволяет одному из них элиминировать другого посредством конкуренции. Экологические различия могут быть небольшими, когда подвиды встречаются впервые, но с тех пор как они встретились, особи с подобными различиями будут лучше выживать, чем организмы, у которых нет отличий. Эти различия будут усиливаться естественным отбором до тех пор, пока два вида не перестанут конкурировать за необходимые ресурсы» (Lack, 1971. Р. 6) (пер. Я.Г.). Хаксли лишь постулировал или приводил отдельные примеры экологической изоляции, которая может возникать между близкородственными видами в зоне перекрывания ареалов. Но где же было взять теоретические принципы, которые объяснили бы ее формирование и механизм действия? По этому сложному вопросу Лэк писал: «Я шел к идее экологической изоляции медленно, очень мучительно. В 1939 г. я читал и прямо отвергал утверждение Гаузе (Gause, 1939) о важности экологической изоляции. В 1942 г. я полностью пренебрег точкой зрения Хаксли о значении различий в размерах тела у птиц и млекопитающих. Между тем обе идеи составили основу моих воззрений» (Lack, 1971. Р. 6, 7) (пер. Я.Г.). Нет сомнения в том, что благодаря книге Гаузе Лэк, наконец, нашел общий теоретический принцип, позволивший понять не просто эволюционное значение конкуренции как агента естественного отбора в процессах микроэволюции, но как важнейшего фактора видообразования. Модель Д. Лэка представляла настоящий синтез географической модели видообразования и закона Гаузе. Очень часто эволюционные изменения начинаются в условиях географической изоляции близкородственных популяций, когда прекращается поток генов между изолятами, но завершающая стадия происходит после вторичного контакта популяций. В этих условиях естественный отбор действует в сторону дивергенции (элиминация менее приспособленных гибридов), завершая формирование изолирующих механизмов.

В знаменитой книге «Дарвиновы вьюрки» Д. Лэк действительно принципиально изменил ранние нейтралистские заключения, о которых он так уверенно писал в 1940 г. Слова Лэка однозначно подтверждают эволюцию его взглядов

от нейтрализма к адаптационизму. «Длительные рассуждения привели меня к тому пониманию, что отсутствие адаптивных различий является только кажущимся и что фактически близкородственные виды отличаются друг от друга по многим признакам, которые играют крайне важную роль в выживании, особенно когда виды встречаются вместе» (Lack, 1947. Р. 147) (пер. Я.Г.). Хотя он продолжал утверждать, как и все генетики, что вариация у вьюрков появляется как неадаптивная, его новая концепция состояла в том, что большинство различий внутри и между видами были продуктом естественного отбора. Он идентифицировал три механизма, посредством которых успешное видообразование имело место среди галапагосских вьюрков.

1. Один из зарождающихся видов лучше адаптирован к одной части совместной географической области, в то время как другой лучше адаптирован к другой части, и таким путем достигается географическое обособление.

2. Один вид лучше адаптирован к одному типу местообитания, в то время как другой – к другому. Различие в местообитании создает обособление.

3. Один вид лучше приспособлен к использованию одного типа пищи, в то время как другой лучше приспособлен к другому, в результате возникает сосуществование видов в одном местообитании путем разделения трофической ниши.

В качестве примера он приводил различия в размерах клюва трех земляных вьюрков, которые сосуществуют на некоторых островах в результате их адаптации к потреблению различных по размеру семян.

Монография Д. Лэка «Экологическая изоляция у птиц» вышла в 1971 г., она продолжала тему книги о вьюрках 1947 г. Д. Лэк постоянно накапливал материал, доказывающий роль экологической изоляции в видообразовании (Lack, 1971).

В научном мире книга Лэка 1947 г. никогда не упоминалась среди фундаментальных трудов, заложивших основу синтетической теории эволюции. Она вполне могла бы носить название «Популяционная экология и происхождение видов». Но и в ее названии есть много привлекательного. Дарвинова теория естественного отбора была возрождена и обогащена

на объекте, названном Лэком в честь великого человека. Теория эволюции, состыкованная с теоретической и экспериментальной экологией, стала поистине синтетической. Период «бури и натиска» завершился. Но и популяционная экология, «овеванная эволюционным синтезом», по удачному выражению Ф. Дарлингтона (Darlington, 1980), предлагала самым широким кругам натуралистов и экспериментальным биологам небольшое число довольно простых и красивых теоретических принципов для объяснения сложной реальности. Взаимовлияние и обогащение разных сфер деятельности на самом деле рождались в муках. Велика цена научного достижения.

Сам же Д. Лэк последовательно начал рассматривать закон Гаузе в статусе закона природы, а не эмпирического обобщения со многими исключениями. Ряд, казалось бы, очевидных исключений был интерпретирован Лэком с позиций закона Гаузе и концепции экологической ниши (Lack, 1945b, 1946). Так, например, он показал, что в Великобритании большой баклан (*Pnalacrocorax carbo*) и длинноносый баклан (*Pn. aristotelis*) гнездятся на одних и тех же скалах и кормятся в одних и тех же водах, однако длинноносый баклан питается в открытом море преимущественно сельдевыми, а большой баклан – в основном донной рыбой (камбала и бычки) и придонными беспозвоночными (Lack, 1945b). Он вел полемику с Г. Андреварта и Л. Берчем (Andrewartha, Birch, 1954) и убедительно доказал, что исключения из закона Гаузе основаны на неглубоком изучении биологии близкородственных видов (Lack, 1971).

Э. Майр (Mayr, 1982) писал, что хотя оставался еще ряд нерешенных проблем, для него эволюционный синтез был завершен к концу 1940-х годов. Монография «Генетика, палеонтология и эволюция» (Genetics..., 1949) венчала работу «коллективного разума». Майр принял представление об экологических изолирующих механизмах и нашел им место в развиваемой концепции географического видообразования (Mayr, 1949). Он показал, что видообразование не только связано с географической изоляцией, но и с обособлением экологических ниш. Д. Лэк в статье «Значение экологической изоляции» (Lack, 1949) суммировал предшествующие исследования по биологии близкородственных

видов, четко нашел место биотопическому отбору (как вторичной причине) и обрисовал общую структуру процесса видообразования: 1. Птицы отбирают их местообитания посредством распознавательных факторов, которые эволюционируют в результате естественного отбора. В конечном итоге естественный отбор является ответственным за различия по биотопам, а не психологические факторы, по которым якобы происходит выбор местообитаний. 2. Виды птиц являются экологически изолированными друг от друга ареалами, местообитаниями или пищей. Это есть неизбежное следствие конкуренции и является скорее результатом, чем причиной видообразования. 3. Конкуренция за пищу требует дальнейшего изучения и анализа. 4. Видообразование тесно связано с адаптивной радиацией, и эта связь представляется в такой последовательности: а) географическая изоляция популяций; б) морфологическая дифференциация; в) приобретение частичной стерильности и частичной экологической дивергенции; г) вторичная встреча дочерней и родительской популяций как новых видов, когда как генетическая, так и экологическая изоляция являются эффективными; д) увеличение экологических различий и дифференциация, увеличение специализации каждой формы к измененной нише; е) дальнейшее географическое распространение каждой формы с повторением всего процесса от «а» до «е» (Lack, 1949. P. 308).

В 1950 г. на X Международном орнитологическом конгрессе Ч. Вори (Vaurie, 1951) доложил результаты знаменитых исследований по адаптивным различиям в размере тела и клюва у двух симпатрических видов поползней (*Sitta neumayer*, *S. terhronota*). В зонах контакта видов имеет место дивергенция по двум важным признакам сразу, различия приобретают характер эффективных изолирующих механизмов.

Майр выступил на конгрессе с обстоятельным докладом «Видообразование у птиц» (Maug, 1951). Докладчик главное внимание уделил обоснованию положения о том, что изучение экологических факторов в видообразовании и экологических признаков в таксономии, быть может, центральная проблема эволюции и сис-

тематики. Влияние популяционной экологии на изменения во взглядах Майра понятно из следующих слов: «Анализ значения таксономических признаков достиг в последние годы большого прогресса. Не так давно полагали, что только признаки рода и высшие категории имеют адаптивную ценность. Думали, что признаки вида и низших категорий по своей природе случайны. Сейчас накапливается все более и более доказательств, что многие, если не все видовые и подвидовые признаки имеют положительные селективные ценности» (Maug, 1951. P. 110) (пер. Я.Г.). Конечно, это было значительным преувеличением, так как действие генотипического дрейфа еще никто не отменял, и он действует в любых, даже современных изолированных малых популяциях. Сам же Майр изменил свою точку зрения уже в 1954 г., когда выдвинул принцип основателя (Maug, 1954).

Благодаря работам Майра, Вори и других ученых было показано значение закона Гаузе и эколого-географической модели видообразования Лэка и для решения фундаментальных проблем систематики. Междисциплинарные связи расширились и укреплялись.

Р. МакАртур (аналитический теоретик) явился главным поставщиком идей, и его влияние на развитие эколого-эволюционных идей исключительно велико. Так, например, МакАртур и Р. Левинс на примере пяти видов птиц, принадлежащих к одному роду (*Dendroica*), показали, что различия лишь по одному ресурсу или по месту его добычи, или тактике добычи могут быть достаточными для стабильного сосуществования видов (MacArthur, Levins, 1964, 1967).

Работы Д. Лэка по изучению смещения фенотипических признаков у близкородственных видов в симпатрических зонах превратились в огромную научную индустрию, в эти исследования включились коллективы и отдельные ученые из разных стран мира, постоянно накапливается новый материал (Sulloway, Kleindorffer, 2013).

Но каким образом конкуренция связана с генетической изменчивостью популяций и как синэкологические факторы в целом влияют на микроэволюционный процесс, изучаемый популяционно-генетическими методами? Исследования поставленных вопросов привели к зарождению нового этапа в развитии учения о микроэволюции, основанного на комбинировании

ровании методов популяционной генетики и экологии. В 1970-е годы было положено начало возникновению областей интенсивного развития – эволюционно-экологической генетики, или эволюционной экологии (Галл, 1984, 2012; Bassar *et al.*, 2013).

Эколого-географическая модель видообразования, созданная Лэком в 1943–1944 гг. при изучении вьюрков Галапагоса, постоянно уточняется. Она на протяжении более полувека служит источником широкого изучения особенностей видообразования у самых различных животных, включая и эту интересную группу птиц (см. Grant, 1999). Но вьюрки Галапагоса вновь оказались в центре внимания биологов-эволюционистов в связи с развитием эволюционной биологии развития (Evo-Devo). В целой серии экспериментальных исследований было показано, что рост клюва у вьюрков контролируется морфо-генетическим протеином *Bmp4*. Ярко выраженная морфологическая изменчивость размера и формы клюва у вьюрков определяется действием именно этого белка. Измерение экспрессии *Bmp4* в роде *Geospiza* позволило создать карту, которая изображает морфологию клюва и уровень экспрессии *Bmp4* (Abzhanow *et al.*, 2004; Sinervo, 2005; Patel, 2006; Campas *et al.*, 2010).

К сожалению, данные биологии развития еще не состыкованы с концепциями видообразования, и создается впечатление, что онтогенетический механизм реализации признака является единственным фактором, отвечающим за разнообразие форм. Исследования по эволюционной биологии развития должны быть в какой-то форме согласованы с данными, полученными при изучении популяционных процессов, идущих при видообразовании. Мир генетика в изучении видообразования расширяется, но при этом резко повышается и роль экологии, так как со временем и среда обитания организмов меняется, и происходят климатические изменения. В последней монографии о вьюрках Галапагоса мы находим афоризм, которым можно очень точно охарактеризовать все творчество Г. Гаузе и Д. Лэка в области теории эволюции: в эволюционной биологии все

имеет смысл лишь в свете экологии (Grant P., Grant R., 2008. P. 268).

Дэвид Лэк внес действительно огромный вклад в эволюционный синтез и одновременно был основоположником эволюционной экологии (Lack, 1940, 1965, 1966). Это, пожалуй, редкий случай, когда ученый выполнив первоклассные исследования более 60 лет назад, продолжает активно «жить» в современной науке. Это просто удивительно, так как в области видообразования накоплен огромный фактический материал, созданы многочисленные конструкции, особенно в связи с изучением гибридизации, полиплоидии и партеногенеза у животных. И все же классик в области нестандартного видообразования И.С. Даревский писал: «Широкий интерес, проявляемый зоологами разных стран к изучению партеногенеза у позвоночных, несомненно, приведет к открытию все новых и новых однополых видов. Однако, сколько бы их не описывали и впредь, число их будет ничтожно мало по сравнению с основной массой живых организмов, образовавшихся как следствие дивергентной эволюции. Именно она представляет собой столбовой путь видообразования в мире животных» (Даревский, 1982. С. 44; см. также Боркин, Даревский, 1980).

ЛИТЕРАТУРА

- Боркин Л.Я., Даревский И.С. Сетчатое (гибридогенное) видообразование у позвоночных // Журн. общ. биологии. 1980. Т. XLI. № 4. С. 485–506.
- Галл Я.М. К дискуссии о законе Гаузе // Вопросы развития эволюционной теории в XX веке. Л.: Наука, 1979. С. 50–60.
- Галл Я.М. Популяционная экология и эволюционная теория: историко-методологические проблемы // Экология и эволюционная теория / Отв. ред. Я.М. Галл. Л.: Наука, 1984. С. 109–152.
- Галл Я.М. Вьюрки Дарвина – «Яблоко Ньютона»? // Природа. 1987. № 12. С. 46–57.
- Галл Я.М. Георгий Францевич Гаузе (1910–1986). СПб.: Нестор-История, 2012. 233 с.
- Даревский И.С. Замечательные скальные ящерицы // Природа. 1982. № 3. С. 33–44.
- Колчинский Э.И. Эрнст Майр и современный эволюционный синтез. М.: Тов-во изданий КМК, 2006. 147 с.
- Конашев М.Б. Становление эволюционной теории Ф.Г. Добржанского. СПб.: Нестор-История, 2011. 278 с.
- Abzhanow A., Protas M., Grant R., Grant P., Tobin C. *Bmp4* and morphological variation of beaks in Darwin's finches // Science. 2004. V. 305. No. 5689. P. 1462–1465.
- Anderson T. The life of David Lack. Oxford: Oxford Univ.

- Press, 2013. 246 p.
- Andrewartha H., Birch L. The distribution and abundance of animal. Chicago: Chicago Univ. Press, 1954. 782 p.
- Anonymous // J. Anim. Ecol. 1944. V. 13. No. 2. P. 176–177.
- Bassar R., Lopez-Sepulcre K., Reznik D., Travis J. Experimental evidence for density-dependent regulation // Amer. Nat. 2013. V. 181. No. 1. P. 25–38.
- Fox A., Beasley P. David Lack and the birth of radar ornithology // Arch. Nat. Hist. 2010. V. 37. Part 2. P. 325–332.
- Campas O., Mallarino R., Herrel A., Abzhanov., Brenner M. Scaling and shear transformations capture beak shape variation in Darwin's finches // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. No. 8. P. 3356–3360.
- Darlington P. Evolution for Naturalists: The simple principles and complex reality. N.Y.: Wiley, 1980. 262 p.
- Dobzhansky Th. Genetics and the Origin of Species. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1937. 364 p.
- Gause G.F. The Struggle for Existence. Baltimore: Willkins, 1934; 2nd ed. N.Y.; London: Hafner Publishing Co, 1964; 3rd ed. N.Y.: Dover, 1972; N.Y.: 4th. ed. N.Y.: Dover Publishing House, 2003. 163 p.
- Gause G.F. Vérification expérimentales de la théorie mathématique de la lutte pour la vie. Paris: Hermann et Co, 1935. 61 p.
- Genetics, paleontology and evolution / Eds G. Jepsen, E. Mayr, G. Simpson. Princeton, New Jersey: Princeton Univ. Press, 1949. 474 p.
- Grant P. Ecology and Evolution of Darwin's finches. Princeton: Princeton Univ. Press, 1999. 492 p.
- Grant P., Grant R. How and Why Species Multiply. The Radiation of Darwin's Finches. Princeton: Princeton Univ. Press, 2008. 503 p.
- Haffer J. The origin of modern ornithology in Europe // Arch. Nat. Hist. 2008. V. 35. Part 1. P. 76–87.
- Harvey L. Symposium on the ecology of closely allied species // J. Ecol. 1945. V. 33. No. 1. P. 115–116.
- Hutchinson E., Formozov N. The role of A. N. Formozov in the development of ecological theory // Arch. Nat. Hist. 1989. V. 16. No. 2. P. 143–145.
- Lack D. Double-brooding of the nightjar // Br. Birds. 1930. V. 23. P. 242–244.
- Lack D. Some breeding habits of the European nightjar // Ibis. 1932. V. 13. No. 2. P. 266–284.
- Lack D. Habitat selection in birds with special reference to the effects of afforestation on the Breckland avifauna // J. Anim. Ecol. 1933. V. 2. P. 239–262.
- Lack D. The Birds of Cambridgeshire. Cambridge: Cambridge Bird Club, 1934. 156 p.
- Lack D. Evolution of the Galapagos finches // Nature. 1940. V. 146. No. 3697. P. 324–327.
- Lack D. The Life of the Robin. London: H.F. & Witherby LTD, 1943. 200 p.
- Lack D. Ecological aspects of species-formation passerine birds // The Ibis. Ornithology. 1944. V. 86. P. 260–286.
- Lack D. The Galapagos finches (Geospizinae): A study in variation // Occasional Papers on the California Academy of Sciences. San Francisco, 1945a. No. 21. P. 1–151.
- Lack D. The ecology of closely related species with special reference to cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and shug (*P. aristotelis*) // J. Anim. Ecol. 1945b. V. 14. No. 1. P. 12–16.
- Lack D. Competition for food by birds of prey // J. Anim. Ecol. 1946. V. 15. No. 2. P. 123–129.
- Lack D. Darwin's Finches. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1947. 208 p.
- Lack D. The significance of ecological isolation // Genetics, Paleontology and Evolution / Eds G. Jepsen, E. Mayr, G. Simpson. Princeton, New Jersey: Princeton Univ. Press, 1949. P. 299–308.
- Lack D. Evolutionary ecology // J. Anim. Ecol. 1965. V. 34. No. 2. P. 223–231.
- Lack D. Population Studies of Birds. Oxford: Clarendon Press, 1966. 341 p.
- Lack D. Ecological Isolation in Birds. Oxford-Edinburgh: Blackwell, 1971. 404 p.
- Lack D., Lack L. Territory reviewed // Br. Birds. 1933. V. 27. P. 179–199.
- Lowe P. The finches of the Galapagos in relation to Darwin's conception of species // Ibis. 1936. V. 78. P. 310–321.
- MacArthur R., Levins R. Competition, habitat selection and character displacement in a patchy environment // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1964. V. 51. No. 6. P. 1207–1210.
- MacArthur R., Levins R. The limiting similarity, convergence and divergence of coexistence species // Amer. Nat. 1967. V. 101. No. 921. P. 377–385.
- Mayr E. Systematics and the Origin of Species. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1942. 330 p.
- Mayr E. [Review of Ecological aspects of species-formation in passerine birds by D. Lack] // Wilson Bull. 1944. V. 56. P. 223–224.
- Mayr E. Speciation and systematics // Genetics, Paleontology and Evolution. New Jersey, 1949. P. 281–298.
- Mayr E. Speciation in birds // Proc. 10th Intern. ornit. Congr. Upsala. 1951. P. 91–131.
- Mayr E. Change of genetic environment and evolution // Evolution as Process / Eds J. Huxley, A. Hardy, E. Ford. London: Allen & Unwin, 1954. P. 157–180.
- Mayr E. The growth of biological thought: diversity, evolution and inheritance. Cambridge-Mass.: The Belknap Univ. Press, 1982. 974 p.
- Patel N. How to build a longer beak? // Nature. 2006. V. 442. No. 7102. P. 515–516.
- Sinervo B. Evo-Devo: Darwin's finch beaks, Bmp4, and the development origins of novelty // Heredity. 2005. V. 94. P. 141–142.
- Sulloway F., Kleindorffer D. Adaptive divergence in Darwin's small ground finch (*Geospiza fuliginosa*): divergent selection along a cline // Biol. J. Linn. Soc. 2013. V. 110. No. 1. P. 45–59.
- Thorpe W. David Lambert Lack (1910–1973) // Biographical Memoirs of Fellow of the Roy. Soc. 1974. V. 20. P. 271–293.
- Vaurie Ch. Adaptive differences between two sympatric species of Mathatches (*Sitta*) // Proc. 10-th Intern. Ornith. Congr. Upsala, 1951. P. 163–166.

DAVID LACK: TWO VERSIONS OF SPECIATION, FROM NEUTRALISM TO THE ADAPTIVE APPROACH

Ya.M. Gall

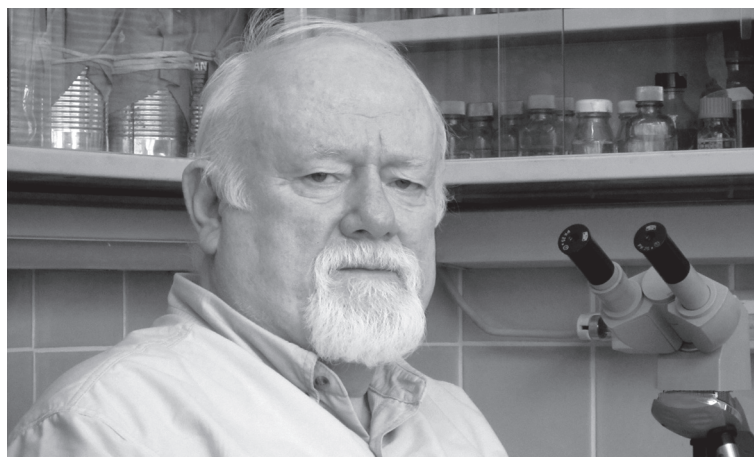
Institute of the History of Sciences and Technology, Saint-Petersburg Branch,
Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia,
e-mail: Yasha@JG7549.spb.edu

Summary

The article reviews the development of two leading concepts of speciation, developed in the 1940-s by the British ornithologist and ecologists David Lack (1910–1973). It shows the ways Lack simultaneously developed two different versions of speciation. Emphasis is placed on the analysis of evolutionary thoughts of Lack expressed in his book “Darwin’s Finches”. Evidence is given that Lack, in addition to being a founder of contemporary evolutionary ecology, apparently belongs to the architects of evolutionary synthesis.

Key words: species, geographical speciation, ecogeographical speciation, David Lack, Ernst Mayr, Georgii Gause, Aleksandr Formozov.

ПРОФЕССОР ГЕННАДИЙ ИВАНОВИЧ НАУМОВ: 70 ЛЕТ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ



8 июля 2014 г. исполнилось 70 лет Геннадию Ивановичу Наумову, профессору, доктору биологических наук. Г.И. Наумов широко известен во всем мире как выдающийся ученый в областях генетики, эволюции и геносистематики. Объектом его исследований являются эукариотические микроорганизмы – дрожжи и дрожжеподобные грибы многочисленных видов родов *Arthroascus*, *Eremothecium*, *Galactomyces*, *Kazachstania*, *Kluyveromyces*, *Komagataella*, *Lachancea*, *Methchnikowia*, *Ogataea*, *Pichia/Hansenula*, *Saccharomyces*, *Shizosaccharomyces*, *Williopsis*, *Zygowilliopsis* и *Yarrowia*.

Г.И. Наумов родился в 1944 г. в Красноярске в русско-украинской семье. Мать Мотрий Ганна Петровна – уроженка с. Опошня Полтавской области, отец Наумов Иван Петрович родился в с. Муравка Орловской области. В связи с военной службой отца (капитан ВВС) Г.И. Наумов проживал в ряде городов России, Западной и Восточной Украины. В 1962 г. после окончания школы в г. Ефремов он поступил на биолого-почвенный факультет Воронежского государственного университета, откуда со второго курса был переведен лично ректором академиком И.Г. Петровским и академиком А.Н. Белозерским на кафедру биохимии растений (ныне кафедра молекулярной биологии) Московского

государственного университета для специализации по биохимии наследственности. После окончания МГУ был оставлен на этой же кафедре для прохождения аспирантуры (1966–1969 гг.). Часть его аспирантских исследований выполнена в Межфакультетской лаборатории биоорганической химии (корпус А) МГУ. Курсовую, дипломную и аспирантскую работы выполнял под руководством известного энзимолога В.В. Юркевича (Бухарина) – аспиранта академика А.И. Опарина. Кандидатскую диссертацию «Изменчивость биохимических признаков, используемых в таксономии дрожжей» по специальности «биохимия» Г.И. Наумов защитил в 1970 г. В ней, как и в последующих его работах, были три составляющие: геносистематика, генетика и энзимология. Кроме школ академиков А.И. Опарина, А.Н. Белозерского и члена-корреспондента РАН И.А. Захарова-Гезехуса на Г.И. Наумова оказали большое влияние работы О. Винге (Карлсбергская лаборатория) и В.И. Кудрявцева. После окончания аспирантуры в 1969 г. Г.И. Наумов был направлен во Всесоюзный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (ФГУП ГосНИИ генетика), где он занимал должности старшего научного сотрудника, главного научного сотрудника, заведующего сектором и лабораторией моле-

кулярной генетики, таксономии и экологии дрожжей. В 2013 г. Г.И. Наумов организовал группу молекулярной генетики и коллекции дрожжей в Научно-исследовательском центре биолого-медицинских технологий ВИЛАР РАН. В настоящее время Г.И. Наумов уделяет большое внимание биоконтролирующим дрожжам, включая дрожжи-пробиотики родов *Kluyveromyces* и *Saccharomyces*.

В 1978 г. Г.И. Наумов защитил докторскую диссертацию «Сравнительная генетика признаков, используемых в таксономии дрожжей» по специальности «генетика».

Отметим наиболее приоритетные научные достижения Г.И. Наумова, во многом определившие развитие современной зимологии — науки о дрожжах.

1969–1972 гг. — проведен генетический анализ природных мутантов, который впервые показал сложное строение мальтозных полимерных локусов *MAL*.

1972–1973 гг. — на основе природных мутантов идентифицирована сложная система генов *HML*, *HMR* и *HO* (в современной символике), ответственных за переключение типов спаривания локуса *MAT*.

1973 г. — открыта новая токсинообразующая плаزمид [k2], определяющая конкурентоспособность дрожжей в естественных и промышленных популяциях. Существенная часть этих исследований проводилась с участием Н.И. Бурьян и Л.В. Тюриной из НИИВиВ «Магарач» (Ялта).

1978–1979 гг. — обнаружена регрессивная эволюция ферментации галактозы — потеря активных аллелей галактозных генов *GAL* в некоторых популяциях винных дрожжей.

1989–2002 гг. — открыто суперсемейство 15 мобильных теломерных α -галактозидазных генов *MEL*.

1990–1992 гг. — передовое использование метода молекулярного кариотипирования: пульс-электрофореза и Саузерн-гибридизации хромосомных ДНК с различными зондами.

1969–2002 гг. — разработаны концепции биологических видов и генетических родов, прежде всего на примере дрожжей *Saccharomyces*. Открыты виды-двойники *S. cerevisiae*: *S. bayanus*, *S. paradoxus*, *S. cariocanus*, *S. kudriavzevii* и *S. mikatae*.

1986–1999 гг. — на основе гибридизационного и изозимного анализов у дрожжей *S. paradoxus* обнаружены частично репродуктивно изолированные популяции в Европе, Северной Америке и на Дальнем Востоке. В статусе вида *in statu nascendi* выделена гавайская популяция, которая дает полностью стерильные гибриды только с европейскими штаммами.

1980–2009 гг. — при сотрудничестве с И.П. Бабьевой (кафедра биологии почв МГУ) разрабатываются молекулярно-генетические основы классификации почвенных дрожжей *Williopsis* и *Zygowillipsis*.

1985–2006 гг. — сотрудничество с кафедрой биологии почв МГУ и с голландской коллекцией «Центральное бюро грибных культур (CBS)» позволило провести генетическую классификацию хищных дрожжей рода *Arthroascus*. Восстановлен отечественный вид *A. schoenii*, описаны новые таксоны: вид *A. babjevae* и разновидность *A. fermentans* var. *arxii*.

1986–2011 гг. — разработана генетическая классификация и идентификация молочных дрожжей рода *Kluyveromyces* (syn. *Zygofabospora*) и их диких родственников.

1997, 2013 гг. — открыты новые виды-двойники у метанолусваивающих дрожжей *Ogataea* и *Komagataella*.

2000–2007 гг. — идентифицированы естественные межвидовые гибриды дрожжей *Saccharomyces*, включая тройные *S. cerevisiae* $\times$ *S. bayanus* $\times$ *S. kudriavzevii* и амфидиплоидные *S. cerevisiae* $\times$ *S. bayanus*.

2005, 2011 гг. — обнаружена интрогрессия субтеломерных районов хромосом между видами *Saccharomyces*.

2005–2014 гг. — разрабатывается эволюционная генетика ферментации лактозы дрожжей *Kluyveromyces*. Установлена структура и функция полимерных локусов *LAC1–LAC3* у дрожжей *Kl. lactis*.

С 1999 г. по настоящее время Г.И. Наумов, находясь в служебных командировках, работал в молекулярно-генетических лабораториях Финляндии, Франции, Голландии, Испании, Англии, Дании, Швеции, Венгрии, Словакии, США, Бразилии, Южной Кореи и Тайваня. Неоднократно проводил экспедиционные исследования в Европейской части (включая Крым) и на Дальнем Востоке России, а также в США и Тайване.

Исследования Г.И. Наумова регулярно поддерживаются отечественными и международными грантами/стипендиями.

В 1981 г. Г.И. Наумов получил звание профессора по специальности «генетика». Под его руководством были защищены 16 кандидатских диссертаций. Его ученики И.И. Толстоуков и Е.С. Наумова защитили докторские диссертации.

Г.И. Наумов – автор 340 статей, в том числе 60 в международных журналах. Наряду с успешной научной следует отметить научно-организационную деятельность Г.И. Наумова.

В 1980–1989 гг. он руководил семинарами секций генетики микроорганизмов в Мос-

ковском отделении ВОГиС и МОИП. С 1997 г. по настоящее время является членом международной комиссии от России, проводящей симпозиумы и конгрессы по дрожжам.

С 2001 г. по настоящее время – член редколлегии журнала «FEMS Yeast Research».

В 2004, 2008 и 2014 гг. от России входил в состав оргкомитетов XI и XII конгрессов по дрожжам в Рио-де-Жанейро и Киеве, а также специализированного симпозиума по дрожжам ISSY2015 в Перудже.

В 1997 г. Г.И. Наумов награжден правительственной медалью «В память 850-летия Москвы».

Свое 70-летие юбиляр встречает в расцвете творческих сил.

Сотрудники ФГУП ГосНИИгенетика

Федеральное государственное унитарное предприятие «ПОЧТА РОССИИ»																																																																																																															
Бланк заказа периодических изданий																																																																																																															
Ф. СП-1																																																																																																															
АБОНЕМЕНТ на газету 4 2 1 5 3 журнал (индекс издания) Вавиловский журнал (наименование издания) генетики и селекции Количество Комплектов на 20 год по месяцам <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table> Куда (почтовый индекс) (адрес) Кому (фамилия, инициалы) ----- Линия отреза ----- <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>ПВ</td><td>Место</td><td>Литер</td> <td>ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА</td> <td>4 2 1 5 3</td> </tr> <tr> <td colspan="3"> Газету На Журнал Вавиловский журнал генетики и селекции </td> <td colspan="2"> (наименование издания) </td> </tr> <tr> <td colspan="2" rowspan="2"> Стоимость </td> <td>подписки</td> <td>руб.</td> <td rowspan="2"> Кол-во комп-лектов </td> </tr> <tr> <td>переадресовки</td> <td>руб.</td> </tr> <tr> <td colspan="5"> на 20 год по месяцам </td> </tr> <tr> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table>														1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													ПВ	Место	Литер	ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА	4 2 1 5 3	Газету На Журнал Вавиловский журнал генетики и селекции			(наименование издания)		Стоимость		подписки	руб.	Кол-во комп-лектов	переадресовки	руб.	на 20 год по месяцам					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																																																																				
ПВ	Место	Литер	ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА	4 2 1 5 3																																																																																																											
Газету На Журнал Вавиловский журнал генетики и селекции			(наименование издания)																																																																																																												
Стоимость		подписки	руб.	Кол-во комп-лектов																																																																																																											
		переадресовки	руб.																																																																																																												
на 20 год по месяцам																																																																																																															
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																																																																				
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td style="width: 10%; height: 20px;"></td> <td colspan="6" style="height: 20px;">город</td> </tr> <tr> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td style="height: 20px;"></td> <td colspan="6" style="height: 20px;">Село</td> </tr> <tr> <td colspan="7" style="height: 20px;">почтовый индекс</td> <td colspan="7" style="height: 20px;">область</td> </tr> <tr> <td colspan="7" style="height: 20px;"></td> <td colspan="7" style="height: 20px;">район</td> </tr> <tr> <td colspan="7" style="height: 20px;">код улицы</td> <td colspan="7" style="height: 20px;">улица</td> </tr> <tr> <td colspan="7" style="height: 20px;"></td> <td colspan="7" style="height: 20px;"></td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="height: 20px;">дом</td> <td colspan="3" style="height: 20px;">корпус</td> <td colspan="3" style="height: 20px;">квартира</td> <td colspan="4" style="height: 20px;"></td> </tr> </table> Фамилия И.О.																						город														Село						почтовый индекс							область														район							код улицы							улица																					дом				корпус			квартира						
								город																																																																																																							
								Село																																																																																																							
почтовый индекс							область																																																																																																								
							район																																																																																																								
код улицы							улица																																																																																																								
дом				корпус			квартира																																																																																																								

Отредактировано и подготовлено к печати
в редакционно-издательском секторе 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 25.09.2014 г.
Формат бумаги 60×84 1/8. Усл.-печ. л. 20,2. Уч.-изд. л. 19,5
Тираж 300. Заказ 233

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН»
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2