ИНФОРМАЦИОННЫЙ
ВЕСТНИК
ВОГиС
ОСНОВАН В 1997 г.

Том 9
4
октябрь 2005

Содержание

ПРЕДИСЛОВИЕ К НОМЕРУ
Л.В. Хотылева, В.К. Шумный…….. 461

РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ
Л.В. Хотылева, Н.А. Картель, А.В. Кильчевский……... 463

КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОМА РЖИ (*Secale cereale* L.) С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ
С.В. Малышев, А.В. Войлоков, В.Н. Корзун, А. Бёрнер, Н.А. Картель…….. 473

СОЗДАНИЕ ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ, МАРКИРОВАННЫХ *Vrn*-ГЕНАМИ, И ИХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
Л.Н. Каминская, Л.В. Корень, И.Н. Леонова, И.Г. Адонина, Л.В. Хотылева, Е.А. Салина…….. 481

RAPD-АНАЛИЗ МЕЖВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЛЬНА (РОД *Linum*)
В.А. Лемеш, М.В. Шут, Л.В. Хотылева……... 490

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСМИССИИ УНИВАЛЕНТНОЙ ХРОМОСОМЫ 5R ЧЕРЕЗ ГАМЕТЫ ДИ-МОНОСОМИКА 5D-5R
Н.И. Дубовец, О.Г. Силкова, А.И. Щапова, Л.А. Соловей, Т.И. Штык……. 495

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЯДЕРНОЙ И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ У РАСТЕНИЙ
А.Н. Палилова, П.А. Орлов, Е.А. Волуевич……... 499

ИЗМЕНЕНИЕ ДНК ХЛОРОПЛАСТОВ И МИТОХОНДРИЙ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ У ЗЛАКОВ
М.Г. Синявская, Е.А. Аксенова, Л.А. Першина, С.Ф. Коваль, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко…….. 505

УДВОЕННЫЕ ГАПЛОИДЫ В ИЗУЧЕНИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ
Е.В. Левитес, А.М. Свирщевская, С.С. Кирикович, Л.В. Милько……... 512

ГЕНЕТИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ
А.В. Кильчевский……..... 518

РАЗРАБОТКА НА ОСНОВЕ МЕЛАНИНА СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОБЛУЧЕНИЯ
И.Б. Моссэ, Л.П. Жаворонков, В.П. Молофей, О.С. Изместьева, В.М. Посадская, В.И. Изместьев…….. 527

АДАПТИВНЫЕ МОДИФИКАЦИИ И ЕСТЕСТВЕННЫЙ ОТБОР (ЭВОЛЮЦИОННО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ НАСЛЕДИЕ Е.И. ЛУКИНА)
Я.М. Галл……. 534

ЮБИЛЕЙ АКАДЕМИКА РАСХН В.А. ДРАГАВЦЕВА…….. 541

ТРУДЫ И АУРА ЭВОЛЮЦИОНИСТА. РЕЦЕНЗИЯ НА КНИГУ Н.Н. ВОРОНЦОВА
М.Д. Голубовский……..... 544

THE HERALD
OF VAVILOV SOCIETY
FOR GENETICISTS
AND BREEDERS

THE HERALD VAVILOV SOC. GENET. BREED.

Vol. 9

4

October 2005

Content

FOREWORD
L.V. Khotyleva, V.K. Shumny……... 461

PROGRESS IN GENETIC STUDIES IN BELARUS NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
L.V. Khotyleva, N.A. Kartel, A.V. Kilchevsky……... 463

GENETIC MAPPING IN RYE (*Secale cereale* L.) USING MOLECULAR MARKERS
S.V. Malyshev, A.V. Voylokov, V.N. Korzun, A. Börner, N.A. Kartel……. 473

DEVELOPMENT OF TRITICALE LINES TAGGED WITH *Vrn* GENES AND THEIR MOLECULAR-GENETIC STUDY
L.N. Kaminskaya, L.V. Koren, I.N. Leonova, I.G. Adonina, L.V. Khotyleva, E.A. Salina... 481

USE OF RAPD MARKERS FOR THE STUDY OF INTERSPECIES VARIABILITY IN FLAX (GENUS *Linum*)
V.A. Lemesh, M.V. Shut, L.V. Khotyleva…….. 490

TRANSMISSION OF UNIVALENT CHROMOSOME 5R *via* GAMETES OF DI-MONO-SOMIC 5D-5R
N.I. Dubovets, O.G. Silkova, A.I. Shchapova, L.A. Solovey, T.I. Shtyk……..... 495

BASIC AND APPLIED PROBLEMS OF NUCLEAR-CYTOPLASMIC GENETIC SYSTEMS INTERACTIONS IN PLANTS
A.N. Palilova, P.A. Orlov, E.A. Voluevich…….. 499

CHANGE OF CHLOROPLAST AND MITOCHONDRIAL DNA AT WIDE HYBRIDIZATION IN CEREALS
M.G. Sinyavskaya, E.A. Aksyonova, L.A. Pershina, S.F. Koval, N.G. Danilenko, O.G. Davydenko…….. 505

USE OF DOUBLE HAPLOIDS OF SUGAR BEET FOR THE STUDY OF EPIGENETIC VARIABILITY
E.V. Levites, A.M. Svirshchevskaya, S.S. Kirikovich, L.V. Milko …….…. 512

GENETIC AND ECOLOGICAL BASES OF PLANT BREEDING
A.V. Kilchevsky……. 518

WORKING OUT THE MEAN OF PROPHYLAXIS WITH MELANIN OF GENETIC AND ONTOGENETIC AFTER-EFFECTS OF IRRADIATION
I.B. Mosse, L.P. Zhavoronkov, V.P. Molofei, O.S. Izмestieva, V.M. Posadskaya, V.I. Izмestiev……. 527

THE DEVELOPMENT OF THE NATURAL SELECTION THEORY IN THE WORKS OF E.I. LUKIN
Ya.M. Gall…… 534

ON THE ANNIVERSARY OF ACADEMICIAN V.A. DRAGAVTSEV ……... 541

THE WORKS AND AURA OF THE EVOLUTIONIST. A REVIEW OF N.N. VORONTSOV'S BOOK
M.D. Golubovsky…….. 544

ПРЕДИСЛОВИЕ К НОМЕРУ

Тематический выпуск журнала «Информационный вестник ВОГИС» посвящается 40-летию Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. С учеными Беларуси российские генетики связаны многолетними тесными творческими и дружескими узами. Сотрудничество в рамках Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, Научного Совета по проблемам генетики и селекции АН СССР, совместное участие в организации и работе международных генетических конгрессов, научных конференций, съездов, симпозиумов способствовали успешному развитию многих проблем отечественной генетической науки. Так сложилось, что в 1990-е гг. мы «разошлись по разным квартирам». Последний VI съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров проходил в г. Минске в ноябре 1992 г. Он собрал цвет генетической науки страны, для обсуждения были представлены интересные научные доклады, проведены полезные дискуссии. В процессе работы съезда было принято решение о создании Международной ассоциации обществ генетиков и селекционеров стран СНГ (МАОГиС), что позволило бы поддерживать контакты и творческие связи генетических обществ, разорванные при распаде СССР.

С тех пор прошло немногим более 10 лет. За эти годы в генетике многое изменилось, появились новые научные направления, мощное развитие получили методические и технологические приемы. Каждый научный коллектив стремится найти свой собственный путь, подойти к решению тех проблем, которые более полно отвечают требованиям современности и реальным возможностям коллектива. Развитие генетической науки в бывшем СССР происходило очень сложно и трагично. В Беларуси научные направления генетических исследований формировались под влиянием известных ученых-генетиков Антона Романовича Жебрака, Николая Васильевича Турбина, Петра Фомича Рокицкого. Белорусская генетика за сравнительно недолгий для науки путь своего становления заявила о себе разработкой ряда новых оригинальных направлений исследований по проблемам гетерозиса, полиплоидии, нехромосомной наследственности, математической генетики, мутагенеза, генетики популяций, генной и клеточной инженерии, генетической трансформации растений и создания трансгенных форм.

Разорванные при распаде СССР связи российских и белорусских ученых восстанавливались благодаря личным контактам и поддержке научных Фондов фундаментальных исследований России и Беларуси. На третьем съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров, который состоялся в г. Москве в июне 2004 г., была поставлена задача осуществить организационные мероприятия по воссозданию МАОГиС и более интенсивному развитию международных контактов ученых. С целью организации единого информационного пространства предпо-

лагается использовать возможности журнала «Информационный вестник ВОГиС» путем создания нового раздела, посвященного деятельности генетиков и селекционеров ближнего зарубежья.

Этот выпуск журнала является «первой ласточкой» осуществления задуманного. В нем представлены статьи ученых Беларуси и России, подготовленные по результатам совместных работ, выполненных в рамках Фондов фундаментальных исследований этих стран, а также обзоры, отражающие деятельность Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси за 40-летний период.

академик НАН Беларуси **Л.В. Хотылева**

академик РАН **В.К. Шумный**

РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

Л.В. Хотылева, Н.А. Картель, А.В. Кильчевский

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь,
e-mail: L.Khotyleva@igc.bas-net.by

Статья посвящена итогам научной деятельности Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси за 40-летний период. Дан краткий исторический очерк наиболее важных теоретических и практических достижений по проблемам гетерозиса, нехромосомной наследственности, полиплоидии, экспериментальному мутагенезу. Отражен вклад известных ученых академиков Национальной академии наук Беларуси А.Р. Жебрака, Н.В. Турбина, П.Ф. Рокицкого в развитие основных направлений исследований.

В статье представлены работы Института по генетике тритикале, секалотритикума, озимой ржи, пшеницы, томата, льна, картофеля и других культур. Совместные работы с институтами аграрного профиля привели к созданию новых высокоурожайных сортов и гибридов ряда сельскохозяйственных растений.

Институт выполнил большой объем исследований по генетическим последствиям аварии на Чернобыльской АЭС. В последние годы активно разворачиваются молекулярно-генетические исследования по структурно-функциональной организации геномов растений, культуре клеток и ДНК-технологиям.

Результаты работы Института генетики и цитологии НАНБ высоко оценены научной общественностью и руководством страны. Сотрудниками Института получено 3 Государственных премии Республики Беларусь и 4 премии Национальной академии наук Беларуси.

В 2005 г. исполняется 40 лет со дня основания Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. За эти годы Институт вырос в крупный научный центр, в котором получили развитие новые научные направления генетических исследований, построена экспериментальная база, ведется подготовка научных кадров генетиков.

Становление Института совпало с периодом, когда в биологической науке еще господствовало псевдонаучное лысенковское направление. Белорусской генетике повезло – у ее истоков стояли такие выдающиеся генетики современности, как академики Национальной академии наук БССР А.Р. Жебрак, Н.В. Турбин, П.Ф. Рокицкий, которые заложили основы исследований и создали научные школы по фундаментальным проблемам классической генетики.

Начало теоретическим исследованиям в области генетики в Беларуси было положено работами Антона Романовича Жебрака по экспериментальной полиплоидии сельскохозяйственных растений (Жебрак, 1944; 1957). Его работы по отдаленной гибридизации растений и цитогенетике полиплоидов ознаменовали собой начало нового этапа в развитии экспериментальной генетики. Глубоко продуманные работы по скрещиванию разных видов пшениц, а также использование для преодоления бесплодия колхицинирования позволили А.Р. Жебраку получить выдающиеся результаты в области экспериментальной полиплоидии.

Наиболее интенсивное развитие генетических исследований связано с избранием в состав Национальной академии наук Беларуси в 1953 г. профессора Ленинградского государственного университета Николая Васильевича Турбина. Человек глубокой научной эрудиции и неиссякаемой энергии, прекрасный лектор и талантливый организатор

науки Н.В. Турбин за сравнительно короткий период не только создал крупную научную генетическую школу, но и способствовал интенсивному развитию многих направлений генетики в Беларуси. По его инициативе в Институте биологии АН БССР создается отдел генетики, преобразованный в 1965 г. в Институт генетики и цитологии, и его назначают научным организатором и директором. В этот период начинается многоплановое развитие генетических исследований в Республике по биологии оплодотворения, теории гетерозиса, генетике количественных признаков, экспериментальной полиплоидии, нехромосомной наследственности, математической генетике, мутагенезу, теории отбора. Осуществляется активная подготовка научных кадров генетиков в стенах Института и на кафедре генетики Белорусского государственного университета, которую также возглавил Н.В. Турбин.

Одним из приоритетов в исследованиях Института становится изучение явления гетерозиса как проблемы, связанной с существенным повышением продуктивности растений. Выявление механизмов формирования гетерозиса обеспечивает возможность прогнозирования и целенаправленного использования этого явления в селекции высокопродуктивных гибридов сельскохозяйственных культур.

Н.В. Турбиным сформулирована новая генетическая концепция гетерозиса, основанная на теории генетического баланса, которая исходит из представления о разнонаправленном действии на развитие признака многих наследственных факторов (Турбин, 1961).

Разработаны принципы и методы оценки комбинационной способности компонентов гибридизации с использованием системы диаллельных скрещиваний, изучена наследуемость хозяйственно важных признаков у исходных популяций, проведен анализ генетических свойств инбредных линий кукурузы (Турбин и др., 1974). Разработан алгоритм статистических расчетов и выведены рабочие формулы, позволяющие оценивать комбинационную способность генетически разнокачественных наборов родительских форм (Савченко, 1984).

Исследованы генетические основы и принципы селекции на комбинационную способность компонентов гибридизации, разработаны модификации периодического отбора, выявлены типы действия генов при гетерозисе и определена роль среды в его проявлении у различных культур, показана возможность многократного использования эффекта гетерозиса (Палилов, 1976; Хотылева, Тарутина, 1982; Каминская, 1985; Тарутина, Хотылева, 1990).

Разработан метод оценки эколого-генетических параметров генотипов, популяций и сред, который позволяет определить общую и специфическую адаптивную способность генотипов растений и их экологическую стабильность; он дает возможность провести комплексную оценку среды как фона для отбора; расчленить фенотипическую вариансу популяции на вариансы общей и специфической адаптивной способности и обоснованно выбирать направления адаптивной селекции. Предложены концепция и методы экологической селекции растений для создания высокопродуктивных, энергоэффективных и экологически стабильных сортов, обеспечивающих получение экологически безопасной продукции при использовании природоохранных технологий. Цикл научных разработок по экологической генетике и селекции растений удостоен в 1999 г. премии Национальной академии наук Беларуси (Кильчевский, Хотылева, 1989; 1997).

При разработке теории и методов формирования генетически сбалансированных гетерозисных популяций растений (синтетических сортов) предложена оригинальная математическая модель, позволяющая определять зависимость относительной продуктивности формируемых популяций от показателя общей комбинационной способности, степени инбридинга и числа объединяемых компонентов для полигенно контролируемого признака. С использованием этой модели разработан способ оценки сортов-популяций как исходного материала для заложения инбредных линий с высокой комбинационной способностью (Кедров-Зихман, 1974).

В последние годы для исследования механизмов гетерозисного эффекта привлекаются методы биохимии и молекулярной генетики. Результаты изучения биоэнергетических процессов при гетерозисе позволили реализовать

системный физиолого-биохимический подход к оценке селекционного материала и установить причинно-следственные связи между биоэнергетическими показателями и продуктивностью (Хотылева и др., 1991; Титок, 2004). Теоретические и методические разработки по проблеме гетерозиса нашли широкое практическое использование при выведении гетерозисных гибридов в Беларуси и других странах СНГ. Совместно с сотрудниками Института овощеводства НАНБ созданы и включены в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики сорта и гибриды томата, перца сладкого и острого.

За цикл работ «Генетика гетерозиса и пути его использования в селекции растений» сотрудникам Института Н.В. Турбину, Л.В. Хотылевой, В.Е. Бормотову, О.О. Кедрову-Зихману, В.К. Савченко, Е.А. Бычко, Л.Н. Каминской, Л.А. Тарутиной, Б.Ф. Матросову, А.И. Палилову в 1984 г. присуждена Государственная премия Республики Беларусь.

Большое влияние на развитие теоретических исследований в области генетики оказали работы академика НАНБ Петра Фомича Рокицкого. В 1965 г. по инициативе Н.В. Турбина в Институте создается лаборатория теоретической генетики, на руководство которой он приглашает академика П.Ф. Рокицкого. В эти годы благодаря усилиям П.Ф. Рокицкого в Институте возникает новое перспективное направление исследований – математическое моделирование генетических процессов в популяциях, что делает Институт одним из признанных центров страны по математической генетике.

П.Ф. Рокицкий разработал и внедрил в разные области биологии статистические методы. Его книги по биологической статистике остаются надежными помощниками для исследователей до настоящего времени (Рокицкий, 1973, 1978). За разработку вопросов статистической генетики и внедрение математических методов в биологию П.Ф. Рокицкому в 1974 г. присуждена Государственная премия Республики Беларусь.

Ученые Института внесли серьёзный вклад в разработку проблем полиплоидии растений. Учитывая преимущество триплоидных гибридов сахарной свеклы, белорусские генетики в числе первых в бывшем СССР приступили к созданию коллекции ее тетраплоидных форм и выведению на их основе высокопродуктивных триплоидных гибридов. В этих исследованиях изучены особенности роста и развития тетраплоидных и триплоидных растений сахарной свёклы, их цитогенетика, характер проявления гетерозиса у полиплоидов; разработаны методы создания триплоидных гибридов (Бормотов, Турбин, 1972).

Выполнен теоретический анализ расщепления генов у полиплоидов, исследовано влияние режима свободных скрещиваний и инбридинга на изменение генетической структуры популяций автополиплоидов. Выведены рекуррентные уравнения, описывающие процесс отбора, позволяющие определить частотные параметры в популяции при ее переходе в стационарное состояние (Савченко, 1976).

Теоретические и методические разработки по полиплоидии сегодня широко используются для создания сортов сахарной свеклы. Совместно с Опытной станцией по сахарной свекле и селекционными фирмами КВС (Германия) и Марибо (Дания) в последние годы в Беларуси созданы и районированы сорта сахарной свеклы, которыми засевается 10–12 % посевных площадей Республики, занимаемых сахарной свеклой.

В Институте активно ведется разработка технологии создания нового генетического материала сахарной свеклы в культуре *in vitro*. При использовании в качестве эксплантa неоплодотворенных семяпочек получены оригинальные дигаплоидные гиногенетические формы сахарной свеклы. Получен первый гибрид между удвоенными гаплоидными линиями гиногенетического происхождения (Svirshchevskaya, Dolezel, 2001).

Сотрудники Института были одними из первых, кто начал всесторонне исследовать проблемы нехромосомной наследственности. Н.В. Турбиным и А.Н. Палиловой предложена оригинальная теоретическая модель взаимодействия ядерных генов и плазмогенов при формировании цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Изучены генетические, цитологические и биохимические основы возникновения ЦМС у растений и получены стерильные аналоги линий кукурузы и линии восстановители фертиль-

ности. Выявлено изменение набора изоформ ферментов различных групп, свидетельствующее о нарушении функциональной активности генов, кодирующих их синтез (Турбин, Палилова, 1975; Давыденко, 1984; Палилова, 1986).

Проводятся исследования молекулярных механизмов взаимодействия ядерной и цитоплазматических генетических систем, что позволит более целенаправленно использовать потенциал изменчивости митохондриального и хлоропластного геномов в селекции сельскохозяйственных культур. Сформулирована концепция преобразований клеточных геномов в процессе отдаленной гибридизации как способ взаимной коадаптации ядра и органелл. Полученные результаты расширяют представление о генетических механизмах контроля наследования органельных геномов у высших растений. Монография «Миры геномов органелл» (Даниленко, Давыденко, 2003), посвященная проблемам молекулярной генетики пластид и митохондрий, особенностям функционирования их геномов в клетке, получила премию Национальной академии наук Беларуси 2003 г.

Установлена важная роль взаимодействия ядерных и цитоплазматических генов в защитных реакциях растений к грибным патогенам и вирусам. Показано участие цитоплазматических генетических систем в механизмах фитогормональной регуляции экспрессии генов, устойчивости картофеля к вирусной инфекции, генетическом контроле резистентности мягкой пшеницы к бурой ржавчине, мучнистой росе и другим грибным болезням. На основе результатов этих исследований совместно с Институтом земледелия и селекции НАНБ создан и с 2003 г. включен в Государственный реестр сортов сорт пшеницы Рассвет, который характеризуется высокими урожайностью и качеством зерна, а также устойчивостью к мучнистой росе.

За разработку фундаментальных и прикладных проблем взаимодействия ядерной и цитоплазматической генетических систем у растений сотрудники Института А.Н. Палилова, П.А. Орлов и Е.А. Волуевич удостоены Государственной премии Республики Беларусь 2002 г.

Много внимания в своих исследованиях Институт уделяет работе с новой для Республики и перспективной зерновой культурой тритикале.

Создана коллекция окто- и гексаплоидных линий тритикале с известной системой *Vrn*-генов, определяющих потребность в яровизации и играющих важную роль в адаптации и продуктивности растений. Она послужила экспериментальной моделью при изучении молекулярно-генетических основ экспрессии *Vrn*-локусов у тритикале в совместных с Институтом цитологии и генетики СО РАН исследованиях. Выявлены и количественно описаны закономерности экспрессии доминантных *Vrn*-генов и ее изменчивости у тритикале, изучены районы расположения этих генов на хромосомах, а также охарактеризованы кариотипы созданных линий тритикале. Обнаружен сильный ингибирующий эффект генетической среды тритикале на проявление всех доминантных *Vrn*-генов. Полученные данные объясняют относительную позднеспелость яровых гексаплоидных тритикале в условиях Беларуси и указывают на возможный путь преодоления этого недостатка путем реконструкции генома тритикале (Kaminskaya *et al.*, 2002).

Предложен и экспериментально обоснован новый путь расширения генофонда тритикале посредством интрогрессии генетического материала Aegilops в геном гексаплоидных тритикале (Орловская, 2002).

В процессе совместных исследований с лабораторией генетики и физиологии Всесоюзного института растениеводства им. Н.И. Вавилова был получен высокопродуктивный сорт ярового тритикале Немига 2, который районирован в Киргизии и Таджикистане в 1987 г.

Изучаются закономерности и механизмы формирования и реконструкции кариотипов при анеу- и аллоплоидии хлебных злаков. Особый интерес представляют работы по созданию и изучению нового типа гибридов секалотритикум, где в качестве материнской формы используется рожь.

Показано, что при создании секалотритикума в качестве источников геномов пшеницы лучше использовать гексаплоидные тритикале (AABBRR, $6x = 42$), а источником генома ржи – более совместимые с тритикале сорта тетраплоидной озимой ржи (RRRR, $4x = 28$). Выделены сорта тетраплоидной

озимой ржи (Новосибирская и Пуховчанка) и формы тритикале (NE 83-12 и Ugo), характеризующиеся повышенной совместимостью (Гордей, 1992).

В Институте выполнено экспериментальное реконструирование кариотипа злаков путем межгеномных замещений хромосом. С использованием замещенных форм гексаплоидных тритикале изучен процесс формирования кариотипа при межгеномных замещениях хромосом. Установлено, что интрогрессия хромосом D-генома в кариотипе гексаплоидных тритикале способствует улучшению ряда хозяйственно полезных признаков. Сделан вывод о перспективности синтеза форм тритикале с комбинированным A/B/D-геномом пшеницы и полным набором хромосом ржи, что позволяет вести селекцию на одновременное улучшение нескольких хозяйственно полезных признаков (Дубовец, Бормотов, 1993). Цикл работ по созданию и цитогенетическому исследованию 28-хромосомных пшенично-ржаных гибридов удостоен премии Академии наук Беларуси в 1993 г.

Теоретически обоснованы и методически разработаны новые программы селекции озимой ржи на основе гетероплоидных скрещиваний, предложен метод переноса доминантных генов с диплоидного на тетраплоидный уровень, получена низкостебельная тетраплоидная форма, которая несет ген карликовости (*Ddwl*), созданы уникальные коллекции инбредных самофертильных линий и трисомная серия линий озимой ржи (Кедров-Зихман, Шилко, 1979).

Предложена генетическая концепция создания экологически стабильных гибридов и популяций важнейшей для Республики культуры картофеля, которая включает оригинальные подходы оптимального сочетания генетических манипуляций с материалом на диплоидном и тетраплоидном уровне, получение гаплоидов в культуре пыльников и эффективную технологию микроклонального размножения ценных генотипов (Ермишин, 1998).

В процессе генетических исследований пшеницы создана новая серия моносомных линий ярового сорта Опал, которая зарегистрирована в Европейском объединении по анеуплоидам пшеницы (EWAC) в 1992 г. и передана для использования в ряд научных учреждений России, Украины, Казахстана, КНР (Дыленок, Яцевич, 1984). Создана и изучена серия дисомных линий пшеницы Опал на цитоплазме Опал. Выявлена гетерогенность линий на уровне ДНК. Установлено, что линии различаются между собой и отличаются от исходного сорта по белок-ферментным системам. Определены маркеры, позволяющие дискриминировать генотипы отдельных линий по наличию уникальных и полиморфных локусов (Шаптуренко и др., 2003).

В Институте выполнены разносторонние исследования по генетике льна. Проведен систематический анализ генетических систем, контролирующих развитие признаков продуктивности волокна и семян у льна долгунца; оценены интегральные показатели энергетического метаболизма у образцов льна разной продуктивности (Хотылева и др., 1997; Титок и др., 2005). Для идентификации генотипов-доноров высокого качества льнопродукции разработаны принципиально новые методы его оценки на основе термогравиметрического анализа, сканирующей электронной микроскопии и инфракрасной спектроскопии.

С целью изучения генофонда этой ценной для Республики культуры начаты молекулярные исследования генетического разнообразия и родственных связей представителей рода *Linum* с последующей идентификацией видов и сортов. Проведенный RAPD-анализ геномной ДНК различных видов льна позволил решить проблему дифференциации некоторых видов рода *Linum*, трудно различимых по морфологическим маркерам. Метод молекулярного маркирования генома на основе RAPD-PCR дает возможность четко определить таксономический статус представителей рода *Linum* и установить филогенетические взаимоотношения между разновидностями льна культурного и его дикими сородичами, и тем самым снять спорные вопросы систематики (Lemesh, Khotyljova, 2000).

По инициативе молодых ученых в Институте в 1980 г. были начаты генетические исследования с экзотической для Республики культурой – соей. Собрана богатая коллекция различных форм и сортов, на основе которой методами гибридизации и отбора вы-

ведены и внесены в Государственный реестр сортов и кустарниковых пород Республики новые сорта сои. Сейчас работа по созданию и семеноводству новых высокоурожайных сортов и гибридов сои, а также подсолнечника, фасоли, льна масличного успешно проводится созданной при участии Института компанией «Соя – Север».

В последнее время в сотрудничестве с Институтом животноводства НАН Беларуси получили развитие исследования по генетике животных, направленные на разработку программ ДНК-диагностики хозяйственно ценных признаков крупного рогатого скота и свиней с целью ускорения селекционного процесса.

Разработана технология повышения эффективности карповодства в обычных экологических условиях и на радиационно-загрязненных территориях, которая защищена патентами Российской Федерации, Республики Беларусь и Украины.

Выполнены исследования по генетике азотфиксирующих бактерий и созданы штаммы с повышенной способностью азотфиксации и колонизации корневой системы растений. Создан штамм микроорганизмов *Burckholderia sp. 418*, на основе которого организовано производство препарата «Ген-ю» в провинции Шаньдун (КНР).

Значимое место в исследованиях Института занимает изучение мутационного процесса, которое осуществляется на растениях, микроорганизмах и на модельном объекте дрозофиле.

Длительное время в Институте проводилось изучение закономерностей мутационной изменчивости зерновых культур под воздействием радиации и лазерного облучения. Выявлено и изучено явление генетической нестабильности радиационных мутантов (Володин, 1975).

В эти годы активно выполнялась работа по изучению мутационного процесса, направленная на выявление антимутагенов, тормозящих естественный мутационный процесс, и использованию химических веществ для защиты от генетического действия ионизирующих излучений. Были открыты антимутагены среди лекарственных соединений сульфаниламидного ряда и новых антиоксидантов – производных 4-дигидропиридина, установлена зависимость антимутагенной активности от химической структуры соединений, что послужило основой для разработки структурно-функционального подхода к поиску антимутагенов. Р.И. Гончаровой сформулирована концепция антимутагенеза как генетического процесса, который осуществляется многокомпонентной антимутагенной системой на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Предложен общий принцип действия экзогенных антимутагенов через экспрессию генов различных защитных систем, ответственных за жизнеспособность клеток и организмов и устойчивость их к воздействию неблагоприятных факторов (Гончарова, 1974; Кужир, 1999).

Обнаружена новая группа радиозащитных соединений, эффективно уменьшающих мутагенный эффект ионизирующей радиации. И.Б. Моссэ с сотрудниками принадлежит приоритет в разработке уникального генопротектора на основе пигмента меланина, способного защищать организм (и в частности, наследственные структуры) от повреждающего действия не только острого, но и хронического облучения (Моссэ, 1990, 2002). Эта проблема приобретает особую актуальность в связи с аварией на Чернобыльской атомной электростанции.

В Институте проведены систематические исследования генетических последствий аварии на детском населении, проживающем в радиационно-загрязненных районах, а также на природных популяциях земноводных, грызунов, рыб, насекомых. Генетический мониторинг выявил ускорение мутационного процесса в первые послеаварийные годы, а затем некоторое снижение темпа мутирования и возникновение адаптации популяций к повышенному радиационному фону. Установлены генетические эффекты низких доз хронического облучения. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о возрастании генетического риска в последующих поколениях людей, подвергающихся низкодозовому хроническому облучению.

Изучаются молекулярные механизмы возникновения рака щитовидной железы у детей и подростков из зоны загрязнения территории Республики радионуклидами (Писарчик и др., 2000).

Более 30 лет в Институте развивались исследования по онкогенетике. Г.В. Красков-

ским сформулирована генетическая концепция раковой анергии и предложен оригинальный методический подход к диагностике рака. Выявлена роль иммунитета в устранении генетических повреждений клеток в процессе канцерогенной индукции и подавлении опухолевого роста, изменчивости генотипа популяции к антителам и преодолении иммунологической атаки организма. На линейных мышах изучен генетический механизм контроля клеточного гомеостаза в процессе канцерогенеза (Красковский, 1970, 1990).

В настоящее время формируются генетический и профилактический регистры рака молочной железы для женщин двух регионов Республики. Выявлены группы онкориска, нуждающиеся в постоянном медицинском наблюдении для раннего выявления заболевания и своевременного лечения (Порубова, 2003).

В 1970-е гг. в Институте получают развитие исследования по генетической трансформации растений, молекулярной генетике и биотехнологии. По инициативе Н.В. Турбина сначала совместно с Институтом прикладной молекулярной биологии и генетики ВАСХНИЛ, а затем самостоятельно были развернуты исследования по генетической трансформации растений – совершенно новому в то время направлению мировой науки (Turbin *et al*., 1975). Для решения этих проблем была создана тематическая группа, а затем лаборатория молекулярной генетики, основанная академиком НАН Беларуси Н.А. Картелем. Под его руководством за этот период получены оригинальные результаты по исследованию эффектов экзогенной ДНК у растений и разработаны актуальные проблемы методологии генетической трансформации (Картель, 1981).

Исследования по структурно-функциональной организации геномов и молекулярному картированию генов у сельскохозяйственных растений сейчас являются одним из основных направлений лаборатории молекулярной генетики. Эти работы получили международное признание, часть из них выполняется совместно с учеными Германии, Англии, Нидерландов и других стран.

Совместно с учеными России и Германии создана насыщенная молекулярными маркерами генетическая карта ржи и картировано около 20 хозяйственно ценных генов. Результаты этих исследований являются приоритетными и важными для селекции и биотехнологии сельскохозяйственных растений, а также молекулярной паспортизации новых для Республики сортов (Korzun *et al.*, 1998).

Одной из проблем, изучаемых сейчас в Институте на молекулярном уровне, является проблема структурно-функциональной организации геномов злаковых культур. В результате изучения геномов пшеницы, ячменя и ржи получены оригинальные данные по структуре, полиморфизму и роли в функционировании геномов некоторых простых и транскрипционно-активных повторяющихся последовательностей ДНК (*AT, AC, tars 1*) (Урбанович, Картель, 1998).

Особый интерес представляют разворачиваемые в последние годы исследования по разработке технологий создания трансгенных растений, изучению эффективности экспрессии и стабильности интеграции чужеродных генов в трансгенных растениях. Сотрудниками лаборатории молекулярной генетики разработана технология создания трансгенных растений, толерантных к широкому спектру тяжелых металлов и нефтепродуктов. Сконструированы плазмидные векторы с генами, кодирующими синтез рамнолипидов (*rhlA*, *rhlB*), и на их основе созданы трансгенные растения табака, способные успешно расти на почвах, загрязненных нефтепродуктами, а также содержащих высокие концентрации меди, свинца, цезия, алюминия и других металлов (Brichkova *et al.*, 2004). Технология может быть использована для селекции трансгенных сельскохозяйственных и древесных растений, пригодных для выращивания на загрязненных тяжелыми металлами и нефтепродуктами территориях. Проводятся исследования по получению трансгенных растений рапса и картофеля, устойчивых к гербицидам и грибным болезням.

Н.А. Картелем с сотрудниками подготовлен и издан «Энциклопедический словарь генетических терминов», отмеченный в 2002 г. премией Национальной академии наук Беларуси (Картель и др., 1999).

По инициативе институтов Отделения биологических наук НАН Беларуси подготовлена и в 2002 г. одобрена Советом Министров Республиканская программа «Генетическая инже-

нерия» на 2002–2006 гг., которая призвана стимулировать развитие в Республике работ по этому исключительно важному и перспективному направлению, подготовку кадров и создание соответствующей материальной базы в научных учреждениях.

По ряду направлений Институт плодотворно сотрудничает с другими институтами НАН Беларуси, вузами Республики, НИИ России и дальнего зарубежья.

Выполненные в Институте фундаментальные исследования привели к созданию новых сортов, линий, гибридов сельскохозяйственных культур, бактериальных удобрений, генетико-селекционных программ и методов, повышающих эффективность селекционного процесса, которые используются в научных экспериментах и в практике сельского хозяйства. При участии Института создано и районировано в Республике и за ее пределами 8 гибридов F_1 томата, 5 сортов перца сладкого, 5 сортов сахарной свеклы, 4 сорта сои, 2 сорта озимой ржи, по 1 сорту пшеницы и подсолнечника. Ряд новых гибридов и сортов находятся в Государственной инспекции по испытанию и охране сортов растений.

Сегодня исследования Института сосредоточены на разработке приоритетных фундаментальных и прикладных проблем генетической науки. Они направлены на изучение генетических процессов регуляции жизнедеятельности растений, животных и микроорганизмов с целью управления их продуктивностью, качеством, устойчивостью, включая изучение структурно-функциональной организации и изменчивости геномов, проблемы генетической и клеточной инженерии.

Как видно из краткого обзора, диапазон исследований Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, единственного генетического учреждения Республики, широко охватывает и решает многие проблемы генетики, актуальные не только для развития биологической науки, но и для народного хозяйства страны.

Литература

Бормотов В.Е., Дубовец Н.И., Щербакова А.М., Бадаев Н.С. Тетраплоидные тритикале. Минск: Навука і тэхніка, 1990. 136 с.

Бормотов В.Е., Турбин Н.В. Экспериментальная полиплоидия и гетерозис у сахарной свеклы. Минск: Наука и техника, 1972. 232 с.

Володин В.Г. Радиационный мутагенез у растений. Минск: Наука и техника, 1975. 192 с.

Гончарова Р.И. Антимутагенез. Минск: Наука и техника, 1974. 144 с.

Гордей И.А. Тритикале: Генетические основы создания. Минск: Навука і тэхніка, 1992. 287 с.

Давыденко О.Г. Нехромосомные мутации. Минск: Наука и техника, 1984. 164 с.

Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Минск: Тэхналогія, 2003. 494 с.

Дыленок Л.А., Яцевич А.П. Моносомный анализ в генетических исследованиях пшеницы. Минск: Наука и техника, 1984. 111 с.

Ермишин А.П. Генетические основы селекции картофеля на гетерозис. Минск: Тэхналогія, 1998. 183 с.

Жебрак А.Р. Синтез новых видов пшениц. М.: Сельхозгиз, 1944. 53 с.

Жебрак А.Р. Полиплоидные виды пшениц. М., 1957.

Каминская Л.Н. Рекуррентная селекция. Минск: Наука и техника, 1985. 160 с.

Картель Н.А. Эффекты экзогенной ДНК у высших растений. Минск: Наука и техника, 1981. 143 с.

Картель Н.А., Макеева Е.Н., Мезенко А.М. Генетика: энциклопедический словарь. Минск: Тэхналогія, 1999. 448 с.

Кедров-Зихман О.О. Поликросс-тест в селекции растений. Минск: Наука и техника, 1974. 128 с.

Кедров-Зихман О.О., Шилко Т.С. Получение и использование трисомиков озимой ржи. Минск: Наука и техника, 1979. 176 с.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Генотип и среда в селекции растений. Минск: Наука и техника, 1989. 191 с.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск: Тэхналогія, 1997. 372 с.

Красковский Г.В. Иммуногенетические основы раковой анергии. Минск: Наука и техника , 1970. 264 с.

Красковский Г.В., Миголеня Т.И. Вариация количества иммунных комплексов и опухолевых антигенов в асцитической жидкости при росте гепотомы 22а у мышей // Докл. АН Беларуси. 1994. Т. 38, № 5. С. 75–78.

Кужир Т.Д. Антимутагены и химический мутагенез в системах высших эукариот. Минск: Тэхналогія, 1999. 267 с.

Моссэ И.Б. Радиация и наследственность: генетические аспекты противорадиационной защиты. Минск: Университетское изд-во, 1990. 208 с.

Орловская О.А. Анализ конъюгации хромосом у

гибридов F_1 и F_4 в процессе интрогрессии *Aegilops* L. в геном тритикале // Докл. НАН Беларуси. 2002. Т. 46, № 3. С. 88–91.

Палилов А.И. Многократный гетерозис. Минск: Наука и техника, 1976. 160 с.

Палилова А.Н. Генетические системы у растений и их взаимодействие. Минск: Наука и техника, 1986.

Писарчик А.В., Ярмолинский Д.Г., Демидчик Ю.Е. и др. Перестройки ret/PTC1 и ret/PTC3r1 в клетках рака щитовидной железы, возникшие у жителей Белоруссии в период после аварии на ЧАЭС // Генетика. 2000. Т. 36, № 7. С. 959–964.

Порубова Г.М. Выявление случаев семейного рака молочной железы среди женского населения двух регионов Беларуси // Мед. новости. 2003. № 8. С. 91–93.

Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: Вышэйш. шк., 1978. 448 с.

Савченко В.К. Генетика полиплоидных популяций. Минск: Наука и техника, 1976. 240 с.

Савченко В.К. Генетический анализ в сетевых пробных скрещиваниях. Минск: Наука и техника, 1984. 223 с.

Тарутина Л.А., Хотылева Л.В. Взаимодействие генов при гетерозисе. Минск: Навука і тэхніка, 1990. 176 с.

Титок В.В. Молекулярно-генетические и биохимические маркеры при гетерозисе // Весці НАН Беларусі. 2004. № 3. С. 103–108.

Титок В.В., Юренкова С.И., Титок М.В., Хотылева Л.В. Характеристика энергетического метаболизма в онтогенезе льна-долгунца при гетерозисе // Генетика. 2005. Т. 41, № 2. С. 1–7.

Турбин Н.В. Гетерозис и генетический баланс // Гетерозис. Минск: Изд-во Академии наук Белорусской ССР. 1961. С. 3–34.

Турбин Н.В., Палилова А.Н. Генетические основы цитоплазматической мужской стерильности у растений. Минск: Наука и техника, 1975. 184 с.

Турбин Н.В., Хотылева Л.В., Тарутина Л.А. Диаллельный анализ в селекции растений. Минск: Наука и техника, 1974. 184 с.

Урбанович О.Ю., Картель Н.А. Анализ структуры повтора BRSI из геномной ДНК ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Цитология и генетика. 1998. Т. 32, № 4. С. 43–49.

Хотылева Л.В., Полонецкая Л.М., Посканная С.И. Генетический контроль признаков продуктивности волокна и семян у льна-долгунца в системе диаллельных скрещиваний // Генетика. 1997. Т. 33, № 6. С. 800–803.

Хотылева Л.В., Разумович В.В., Титок В.В. и др. Биоэнергетические процессы при гетерозисе. Минск: Навука і тэхніка, 1991. 176 с.

Хотылева Л.В., Тарутина Л.А. Взаимодействие генотипа и среды. Минск: Наука и техника, 1982. 109 с.

Шаптуренко М.Н., Куделко Л.И., Яцевич А.П., Хотылева Л.В. Формирование нового исходного материала на основе генетической гетерогенности дисомных растений пшеницы из потомства анеуплоидов // Генетика. 2003. Т. 38, № 11. С. 1508–1513.

Brichkova G., Sorokin A., Kartel N. Bioremediation with ecologicaly safe plants // Genomic in Plant Biotechnology. Nat. Sci. Series. 2004. V. 359. P. 147–158.

Kaminskaya L.N., Koren L.V., Salina E.A. *et al.* Expression of *Vrn*-genes in triticale and some of their molecular-genetic aspects // The 5-th Intern. triticale symposium. June 30–July 5. 2002, IHAR Radzików, Poland. 2002. P. 103–110.

Korzun V., Kartel N., Malyshev S. *et al.* A genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1998. V. 96. P. 203–208.

Lemesh V.A., Khotyljova L.V. Phylogenetic relationships among varieties of cultivated flax and its wild relatives // Proc. Intern. Sci. Conf. «Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia». Novosibirsk, 2000. V. 1. P. 70–72.

Mosse I., Dubovic B., Plotnikova S. *et al.* Melanin is effective radioprotector against chronic irradiation and low radiation doses // IRPA. Regional Congress on Radiation Protection in Central Europe. Radiation Protection and Health, Proceedings. Dubrovnik, Croatia, May 20–25, 2001. ISBN 2002. 30-06 P. 1–6.

Svirshchevskaya A.M., Dolezel J. Karyological characterization of sugar beet gynogenetic lines cultured *in vitro* // J. Appl. Genet. 2001. V. 42, N 1. P. 21–32.

Turbin N.V., Soyfer V.N., Kartel N.A., Chekalin N.M. Genetic modification of the waxy character in barley under the action of exogenous DNA of the wild variety // Mutat. Res. 1975. V. 27. P. 59–68.

Progress in genetic studies in Belarus National Academy of Sciences

L.V. Khotyleva, N.A. Kartel, A.V. Kilchevsky

Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: L.Khotyleva@igc.bas-net.by

Summary

The paper is devoted to the results of scientific activities of the Institute of Genetics and Cytology at the National Academy of Sciences of Belarus over the forty-year period. It presents a brief historical sketch of the most important theoretical and practical results of investigations and contribution of noted scientists, academicians of the National Academy of Sciences of Belarus A.R. Zhebrak, N.V. Turbin, and P.F. Rokitsky to these studies.

Coworkers of the Institute have obtained original findings on the problems of heterosis, extrachromosomal inheritance, polyploidy and experimental mutagenesis.

The work of the Institute on genetics of triticale, secalotriticum, winter rye, wheat, tomato, flax, potato and other crops are also presented in the article. Joint investigations with institutes of an agrarian type have led to the development of new high-yielding cultivars of a number of agricultural crops: wheat, triticale, winter rye, sugar beet, tomato, pepper, soya, etc.

The Institute has performed a large volume of studies on genetic consequences of the Chernobyl accident. In recent years active molecular-genetic investigations on structural and functional organization of plant genomes, cell culture and DNA-technologies are under way at the Institute.

The research results were highly appreciated by the scientific circles. Three State Prizes of the Republic of Belarus and four Prizes of the National Academy of Sciences of Belarus were awarded to the coworkers of the Institute.

КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОМА РЖИ (*Secale cereale* L.) С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

С.В. Малышев[1], А.В. Войлоков[2], В.Н. Корзун[3], А. Бёрнер[4], Н.А. Картель[1]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: S.Malyshev@igc.bas-net.by; [2] Биологический НИИ СПбГУ, Старый Петергоф, 198504, Санкт-Петербург, Россия; [3] Lochow-Petkus GmbH, PF 1197, 29296 Bergen, Germany; [4] Institute of Plant Genetics and Plant Crop Research, D-06466, Gatersleben, Germany

Среди злаков рожь (*Secale cereale* L.) способна расти в экстремальных климатических и почвенных условиях и является основной культурой в Северной Европе. В данной статье описано создание генетической карты ржи с использованием нескольких F_2 популяций. Карта состоит из 139 RFLPs, 19 изозимных и белковых маркеров, 13 микросателлитов, 10 последовательностей с известной функцией и 2 морфологических генов. Маркеры случайно распределены по 7 хромосомам с максимумом 38 на хромосоме 5R и минимумом 19 на хромосоме 3R. В дополнение в различных хромосомных районах локализовано 99 SSR маркеров, 18 генных локусов и более 45 локусов количественных признаков. Показано, что для некоторых из картированных или локализованных генов сравнимые локусы присутствуют у других злаков.

Рожь (*Secale cereale* L.) – ценная сельскохозяйственная культура, представляющая хозяйственный интерес в условиях Центральной и Восточной Европы как источник производства зерна и как культура, возделывание которой возможно на почвах с невысоким содержанием питательных веществ. Одновременно рожь имеет значение как генетический источник для улучшения имеющихся сортов пшеницы и как компонент синтетического гибрида *Triticale*, сочетающего хорошие адаптивные качества ржи с количественными и качественными элементами урожайности пшеницы.

Значительные успехи в картировании ржи были достигнуты благодаря использованию молекулярных маркеров.

В начале 1990-х гг. мы включились в исследования по картированию генома ржи, большая часть которых в последующем была проведена совместно с Институтом генетики и растениеводства (Гатерслебен, Германия) и Санкт-Петербургским государственным университетом (Россия).

Результатом данного сотрудничества стала генетическая карта генома ржи, включающая помимо RFLP маркеров изоферментные и микросателлитные локусы. Кроме этого, посредством использования общих молекулярных маркеров на данной карте интегрированы гены, картированные авторами в различных популяциях ржи.

Создание базовой RFLP-карты генома ржи

К середине 1990-х гг. был опубликован ряд молекулярно-генетических карт ржи, основанных на RFLP- или RAPD-маркерах и охватывающих основную часть генома (Devos *et al.*, 1993; Philipp *et al.*, 1994; Korzun *et al.*, 1994; 1996a, b; Loarce *et al.*, 1996; Senft, Wricke, 1996). Однако большинство этих карт не поддавались сравнению в силу использования различных наборов молекулярных маркеров. С целью создания интегрированной генетической карты нами были созданы две популяции ржи F_2 путем реципрокного скрещивания инбредных линий P87 и P105. Обе линии были получены на материале от скрещивания линии из потомства гибрида Поликроссная × Болгарская низкостебельная (ген *Ddw1*) с сортом Литовская 3. С использованием данных популяций была построена генетическая карта, опубли-

кованная нами в 1998 г. (Korzun *et al.*, 1998) и состоящая из 88 RFLP-маркеров из других карт ржи (Devos *et al.*, 1993; Korzun *et al.*, 1994, 1996a; b; Philipp *et al.*, 1994; Senft, Wricke, 1996), пшеницы (Nelson *et al.*, 1995; Gale *et al.*, 1995), ячменя (Graner *et al.*, 1991; Heun *et al.*, 1991) и овса (O'Donoughue *et al.*, 1995), а также одного изозимного и двух морфологических локусов.

В последующие годы данная карта была существенно расширена за счет включения 51 зонда из геномных и кДНК-библиотек ячменя и *T. tauschii* (Graner *et al.*, 1991). Кроме того, на данной карте было картировано 14 ржаных SCB-маркеров, созданных нами на основе геномной ДНК-библиотеки, обогащенной низкокопийными последовательностями за счет применения чувствительного к метилированию фермента рестрикции PstI (Korzun *et al.*, 1994).

Полученная генетическая карта состоит из 183 локусов и показана на рисунке. Эти локусы формируют 7 групп сцепления, которые представляют собой все 7 хромосом ржи. Общая длина генетической карты составила 1063,4 сМ со средней дистанцией между маркерами 5,8 сМ. Генетическая длина отдельных хромосом ржи колебалась от 118,9 сМ для хромосомы 3R до 205,6 сМ для хромосомы 5R, составляя в среднем 148 сМ.

В среднем генетическая карта состоит из 26 маркеров на хромосому с максимальным числом 38 маркеров для хромосомы 5R и минимальным – 19 для хромосомы 3R. Общим для всех 7 хромосом является кластеризация маркеров вблизи центромер, что связано с более высоким уровнем рекомбинационных процессов в дистальных районах хромосом.

Поскольку рожь является строгим перекрестником, для нее, как правило, наблюдается высокий уровень полиморфизма, составляющий около 70–50 % для зондов различного происхождения. В связи с этим генетическая карта ржи является удобным инструментом для локализации генов, не обладающих достаточным полиморфизмом у таких видов, как пшеница и ячмень. Поэтому помимо использования анонимных RFLP-зондов на данной карте также были интегрированы 10 локусов с установленной функцией.

Соответствующие гены были локализованы с помощью последовательностей, клонированных у различных представителей злаков. Так, на хромосоме 1R картированы локусы *Xlrk10* и *Xbm2* (Korzun *et al.*, 2001), представляющие собой ген рецепторподобной киназы, сцепленной с локусом устойчивости к бурой ржавчине пшеницы *Lr10*, и ген, участвующий в реакции самонесовместимости у *Phalaris coerulescens* соответственно. На хромосомах 1R, 2R и 5R картировано три MSH-локуса, представляющие собой гены репарации неспаренных оснований пшеницы (Korzun *et al.*, 1999). Локус *Xwaw1023* (хромосома 3RL) представляет собой пшеничный ген-гомолог *Vp1*-гена кукурузы, контролирующего период покоя семян (Korzun *et al.*, 2001). Также нам удалось картировать последовательности пыльцевого аллергена пшеницы (*XtriaIII*, 5RL), двух траспортеров сахарозы ячменя (*Xhvsut1*, 7RS; *Xhvsut2*, 5RS) и никотинаминсинтазы ячменя (*Xnashor1*, 7R), фермента, который активно используется в стрессовых условиях дефицита железа (Korzun *et al.*, 2001).

Интеграция изозимных и микросателлитных маркеров

В сравнении с другими маркерными методами RFLP обладает такими существенными недостатками, как использование при анализе большого количества ДНК, необходимость изотопов и высокая затратность в отношении труда и времени. Поэтому несмотря на успехи, достигнутые с использованием RFLP-маркеров, значительные усилия были сделаны для интеграции других маркерных систем.

В силу простоты использования и установившихся традиций изозимные маркеры часто являются предметом выбора в селекционной практике. Кроме того, эти маркеры отражают полиморфизм основных ферментных систем растительного организма, многие гены которых уже клонированы, что позволяет в ближайшей перспективе легко конвертировать их в PCR-маркеры современного типа. За длительный период изучения генома ржи с помощью изозимных маркеров накоплены значительные объемы информации о сцеплении маркеров этого типа

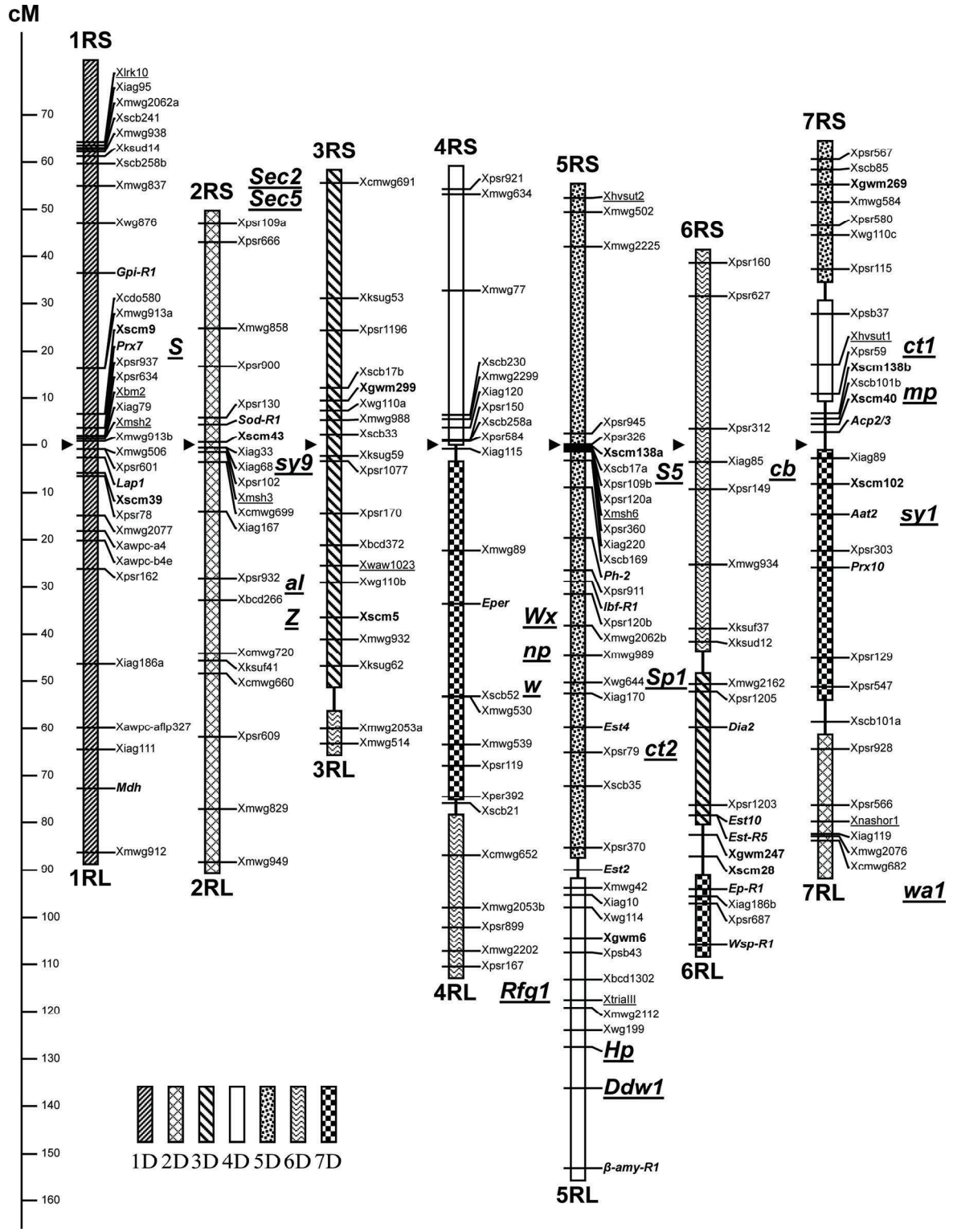

Рис. Генетическая карта ржи (*Secale cereale* L.).

Штриховкой показана гомеологическая локализация зондов у пшеницы. Локусы изоферментов обозначены курсивом, микросателлиты – жирным шрифтом. S – короткое плечо; L – длинное плечо.

с различными селеционно ценными признаками (Priyatkina *et al.*, 1995). Поэтому мы поставили себе задачу интегрировать этот тип маркеров в RFLP-карту генома ржи. В исследуемой популяции было обнаружено и картировано 19 полиморфных биохимических маркеров, экстрагированных из эндосперма или листовой ткани и разделенных методами акриламидного электрофореза или изоэлектрического фокусирования (Korzun *et al.*, 2001). (Соответствующие локусы показаны на рисунке курсивом).

Одним из наиболее перспективных типов маркеров в настоящее время являются микросателлиты (SSR). Они сочетают такие преимущества, как кодоминантность, методическую простоту, возможность автоматизации и специфичность. Единственным недостатком являются высокие затраты при их создании. Существует несколько подходов к созданию SSR-маркеров. Клоны, содержащие SSR-последовательности, могут быть обнаружены в геномных библиотеках, в том числе и специально обогащенных микросателлитными последовательностями; они могут быть идентифицированы в базах данных, созданных в ходе выполнения EST-проектов и, кроме того, они могут быть непосредственно перенесены из близкородственных видов.

Для насыщения генетической карты ржи микросателлитными последовательностями были использованы все эти подходы. Наиболее перспективным из них является создание видоспецифичных микросателлитов ржи. К сожалению, до настоящего времени опубликовано только 27 пар таких праймеров (Saal, Wricke, 1999). Из них нами было картировано 8 таких локусов (SCM).

С целью изучения возможности использования микросателлитных маркеров пшеницы для картирования генома ржи в нашем первоначальном исследовании 30 праймерных пар были тестированы в PCR-реакциях с геномной ДНК ржаных родительских линий. В результате удалось выявить только 3 полиморфные праймерные пары (WMS247, WMS269 и WMS299). В аналогичных результатах, полученных ранее (Röder *et al.*, 1995), из 15 тестированных праймеров 6 были полиморфными и только 2 (WMS2 и WMS6) действительно амплифицировали микросателлитную последовательность. Эти 6 праймеров были проанализированы также на другом материале (Saal, Wricke, 1999). Только два из них дали полиморфные PCR-продукты (WMS6 и WMS44), причем WMS44 сегрегировал по типу присутствие/отсутствие и, по-видимому, не содержал микросателлитных последовательностей, что согласуется с данными (Röder *et al.*, 1995). В нашей популяции из этих двух праймеров только WMS6 оказался полиморфным. Локусы, детектируемые данными праймерами, были картированы на хромосомах 5RL (*Xgwm6*), 6RL (*Xgwm247*), 7RS (*Xgwm269*) и 3RS (*Xgwm299*). Отметим, что с учетом известных эволюционных перестроек все 4 локуса оказались гомеологичны пшеничным. Кроме того, гомеологичный локус, выявляемый WMS6, обнаружен и у ячменя (Ma *et al.*, 1996).

Таким образом, в общей сложности из 45 тестированных праймерных пар было выявлено только 4 (менее 10 %) пригодных для перекрестной амплификации таких близких видов, как пшеница и рожь. Это позволяет сделать вывод о нецелесообразности использования чужеродных микросателлитов для картирования генома ржи. Тем не менее даже такое малое число перекрестно амплифицирующихся пар праймеров может явиться полезным источником маркеров для ржи, благодаря тому что к настоящему времени уже описано около 1500 маркеров у пшеницы. В следующем более масштабном исследовании, проведенном в сотрудничестве с учеными Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), была проанализирована 651 пара SSR-праймеров из пшеничной коллекции Гатерслебена (Германия). Из них 81 пара амплифицировала продукты хорошего качества с ДНК пшеницы. 60 локусов были полиморфными в одной из 4 F_2 популяций и были картированы (Khlestkina *et al.*, 2004).

В последние годы помимо геномных библиотек другим источником микросателлитных маркеров становятся банки нуклеотидных последовательностей, создаваемые в ходе выполнения EST-проектов. В отличие от геномных микросателлитов EST-SSR-маркеры происходят из экспрессируемой части генома и вследствие этого несколько менее полиморфны. С другой стороны, эти маркеры менее видоспецифичны, что позволяет им стать реальной альтернативой

RFLP-маркерам для целей сравнительного картирования. В том же исследовании 8930 ржаных EST-последовательностей было проанализировано на наличие ди-, три- и тетрануклеотидных повторов. Было идентифицировано 207 последовательностей (2,3 %). Из них для 65 удалось создать эффективно работающие пары праймеров (31,4 %). Среди них 36 были полиморфными хотя бы в одной из 4 популяций и амплифицировали 39 локусов, равномерно распределенных по всему геному ржи (Khlestkina *et al.*, 2004). В сходном проекте другой группе исследователей удалось создать 157 EST-SSR-маркеров, из которых 57 были картированы (Hackauf, Wehling, 2001, 2002).

Таким образом, в общей сложности нам удалось картировать около 112 микросателлитных локусов, которые в настоящее время могут использоваться как важнейший инструмент для локализации отдельных генов и локусов количественных признаков.

Картирование морфологических и других генных локусов

Эволюционный консерватизм злаковых хромосом, проявляющийся в сходном расположении перекрестно гибридизующихся зондов и генных локусов, может эффективно использоваться в сравнительном генетическом анализе. Локализация гена в интересующем виде растений может выполняться быстро, если уже известна его позиция на карте в родственных видах. При этом, однако, должны учитываться существующие между некоторыми видами транслокационные различия хромосом. В качестве примера на рисунке показано сравнение генетической карты ржи с D-геномом пшеницы.

Для картирования отдельных локусов было создано более 16 F_2-популяций путем скрещивания мутантных линий ржи различного происхождения (табл.).

Используя эти популяции, мы картировали 20 различных генов ржи, расположенных на шести хромосомах: гены, определяющие высоту растения (*ct1*, *ct2*, *Ddw1* и np.), на хромосомах 7R, 5R и 4R (Plaschke *et al.*, 1993; 1995; Korzun *et al.*, 1996b; Malyshev *et al.*, 2001); гены, определяющие самофертильность (*S*, *Z* и *S5*), на хромосомах 1R, 2R и 5R (Voylokov *et al.*, 1997); ген яровости (*Sp1*) на хромосоме 5R (Plaschke *et al.*, 1993); ген-восстановитель мужской стерильности G-типа (*Rfg1*) на хромосоме 4R (Börner *et al.*, 1998); ген, определяющий отсутствие лигулы (*al*), на хромосоме 2R (Korzun *et al.*, 1997); гены, определяющие отсутствие воскового налета на растении (*wa1* и *w*), на хромосомах 7R и 4R (Korzun *et al.*, 1997; Malyshev *et al.*, 2001); ген, определяющий вакси-эндосперм (*Wx*), на хромосоме 4R (Korzun *et al.*, 1997); ген, определяющий опушенность колосоножки (*Hp*), на хромосоме 5R (Korzun *et al.*, 1996b); ген коричневой окраски стебля (*cb*) на хромосоме 6R и ген многопестичности цветков (*mp*) на хромосоме 7R (Malyshev *et al.*, 2001); гены, определяющие синтез запасных белков эндосперма (75К g-секалинов) (*Sec2* и *Sec5*), на хромосоме 2R (Malyshev *et al.*, 1998); асинаптические гены (*sy1*) и (*sy9*) на хромосомах 7R и 2R (Malyshev *et al.*, 2005).

Полученные нами данные о локализации RFLP-маркеров и генных локусов у ржи сравнивались с уже существующими данными для гомеологичных регионов, содержащих эквивалентные локусы в других злаках. Показано, что многие локусы у ржи имеют высококонсервативные гомеолокусы у многих злаков от риса до пшеницы.

Благодаря использованию общего набора маркеров все индивидуальные карты, полученные для каждой популяции, в отдельности сравнивались с базовой картой генома. Благодаря этому удалось построить интегрированную карту, показанную на рисунке.

Картирование количественных (QTL) признаков

Следует также отметить, что созданная карта является хорошей основой для картирования локусов количественных признаков (QTL) ржи.

Впервые маркерный анализ некоторых количественных признаков у ржи был проведен нами в 1999 г. с использованием только одной хромосомы 5R. Были идентифицированы локусы для признаков «высота» и «длина колосоножки» (Börner *et al.*, 1999). После создания полногеномной карты был проведен более полный QTL анализ (Börner *et al.*, 2000). В этом исследовании удалось

Таблица

Характеристика популяций ржи, использованных для конструирования генетической карты ржи

Популяции	Хромосомы	Гены	Число маркеров	Литература
P87 × P105, P105 × P87	1R, 2R, 3R, 4R 5R, 6R, 7R	*Ddw1*, *Hp*; QTL	180	Korzun *et al.*, 1998; Korzun *et al.*, 2001
Petka × Московский карлик	5R	*Sp1*, *ct2*	21	Plaschke et *al.*, 1993
Halo × Gulzow Kurz	7R	*ct1*	11	Plaschke *et al.*, 1995
R1620 × R347/1	5R, 4R	*Ddw1*, *Hp*, *Rfg1* QTL	22	Korzun *et al.*, 1996b; 1998
S1 × N 6	2R, 4R, 7R	*al*, *Wx*, *wa1*	21	Korzun *et al.*, 1997
L2 × L7	2R	*Sec2*, *Sec5*	12	Malyshev *et al.*, 1998
V × L6, V × L454	1R, 2R, 5R	*S*, *Z*, *S5*	35	Voylokov *et al.*, 1997
L(np, w) × 7A	4R	*np*, *w*	12	Malyshev *et al.*, 2001
L (al, cb, mp) × L(wa1)	6R, 7R	*cb*, *wa1*, *mp*	19	
L2 × L7, L2 × L6, L6 × L7	1R, 2R, 3R, 4R 5R, 6R, 7R	QTL	57, 64, 61	Malyshev *et al.*, 2003
Lsy1 × L6	7R	*sy1*	7	Malyshev *et al.*, 2005
Lsy9 × L6	2R	*sy9*	6	

выявить 21 QTL. Были обнаружены два основных кластера на хромосомах 2R и 5R.

С целью оценки аллельных эффектов QTL были получены межлинейные F_2-популяции от скрещивания линий N 6 (сорт Сталь), линии N 2 (образец Ветвистоколосая) и N 7 (сорт Вятка). Популяции 6 × 2, 7 × 2 и 6 × 7, состоящие из 90 растений, были выращены и проанализированы по 17 признакам в условиях Ленинградской области. Для этих популяций были построены генетические карты сцепления с использованием 51 RFLP-маркера. Данные маркеры выявляли 64 (популяция 6 × 2), 61 (популяция 7 × 6) и 57 (популяция 7 × 2) локусов, охватывающих 1098,4, 1148,8 и 1177,7 сМ соответственно. Генетические карты отдельных хромосом содержали от 5 до 11 маркеров со средней дистанцией между маркерами 17,4–20,5 сМ. Для всех 17 изученных признаков были обнаружены QTL-локусы хотя бы в одной из трех популяций. В том числе в популяции 7 × 6 было выявлено 30 локусов, в популяции 7 × 2 – 45 локусов и в популяции 6 × 2 – 26 локусов с уровнем значимости ($P < 0,05$). Доля общей фенотипической вариации, объясняемой отдельным QTL-локусом, колебалась от 7,5 % до 44,2 % для популяции 7 × 2; от 9,5 % до 46,3 % для популяции 6 × 2 и от 8,1 % до 48,5 % для популяции 7 × 6.

Таким образом, за последние 10 лет применение (RFLP и SSR) методов для изучения закономерностей структурной организации геномов ржи позволило нам создать высоконасыщенную генетическую карту генома ржи, которая является эффективным инструментом для изучения организации генома, а также для маркирования селекционно ценных генов.

Литература

Börner A., Korzun V., Polley A. *et al.* Genetics and molecular mapping of a male fertility restoration locus (*Rfg1*) in rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1998. V. 97. P. 99–102.

Börner A., Korzun V., Voylokov A.V., Weber W.E. Detection of quantitative trait loci on chromosome 5R of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1999. V. 98. P. 1087–1090.

Börner A., Korzun V., Voylokov A. V. *et al.* Genetic mapping of quantitative trait loci in rye (*Secale cereale* L.) // Euphytica. 2000. V. 116. P. 203–209.

Devos K.M., Atkinson M.D., Chinoy C.N. *et al.* Chromosomal rearrangements in the rye genome relative to that of wheat // Theor. Appl. Genet. 1993. V. 85. P. 673–680.

Gale M.D., Atkinson M.D., Chinoy C.N. *et al.* Genetic maps of hexaploid wheat // Proc. 8th Intern. Wheat Genet. Symp., Li Z.S. and Xin Z.Y. China

Agricultural Scientech Press, Beijing: 1995. P. 1333–1500.

Graner A., Jahoor A., Schondelmaier J. *et. al.* Construction of an RFLP map of barley // Theor. Appl. Genet. 1991. V. 83. P. 250–256.

Hackauf B., Wehling P. Development of microsatellite markers in rye: map construction // Proc. of the EUCARPIA Rye Meeting, July 4–7, Radzikow, Poland, 2001. P. 333–340.

Hackauf B., Wehling P. Identification of microsatellite polymorphisms in an expressed portion of the rye genome // Plant Breed. 2002. V. 121. P. 1725.

Heun M., Kennedy A.E., Anderson J.A. *et al.* Construction of a restriction fragment length polymorphism map for barley (*Hordeum vulgare*) // Genome. 1991. V. 34. P. 437–447.

Khlestkina E.K., Than M.H.M., Pestsova E.G. *et al.* Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P. 725–732.

Korzun V., Balzer H.-J., Balzer A. *et al.* Chromosomal location of three wheat sequences with homology to a polen allergen encoding, DNA replication regulating and DNA (cytosine-5)-methyltransferase genes in wheat and rye // Genome. 1996a. V. 39. P. 1213–1215.

Korzun V., Melz G., Börner A. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1996b. V. 92. P. 1073–1077.

Korzun V., Börner A., Siebert R. *et al.* Chromosomal location and genetic mapping of the mismatch repair gene homologs *MSH2*, *MSH3*, and *MSH6* in rye and wheat // Genome. 1999. V. 42. P. 1255–1257.

Korzun V., Kartel N., Plaschke J., Börner A. Construction and screening of a rye DNA library for RFLP mapping // Cereal Res. Commun. 1994. V. 22. P. 151–157.

Korzun V., Malyshev S. *et al.* A genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1998. V. 96. P. 203–208.

Korzun V., Malyshev S., Voylokov A., Börner A. RFLP based mapping of three mutant loci in rye (*Secale cereale* L.) and their relation to homoeologous loci within the *Gramineae* // Theor. Appl. Genet. 1997. V. 95. P. 468–473.

Korzun V., Malyshev S., Voylokov A. V., Börner A. A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 102. P. 709–717.

Loarce Y., Hueros G., Ferrer E. A molecular linkage map of rye // Theor. Appl. Genet. 1996. V. 93. P. 1112–1118.

Ma Z.Q., Röder M., Sorrells M.E. Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetranucleotide microsatellites in wheat // Genome. 1996. V. 39. P. 123–130.

Malyshev S.V., Kartel N.A., Voylokov A.V. *et al.* Comparative analysis of QTLs affecting agronomical traits in rye and wheat // EWAC-Newsl. 2003. V. 12. P. 120–122.

Malyshev S., Korzun V., Voylokov A.V. *et al.* Linkage mapping of mutant loci in rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 103. P. 70–74.

Malyshev S.V., Dolmatovich T.V., Voylokov A.V., Kartel N.A. SSR mapping of two asynaptic mutants in rye // 13 EWAC Meeting, June 27 – July 1. 2005. Prague, Czech Republic. P. A-2.

Malyshev S.V., Khmyl T.O., Zabenkova K.I. *et al.* RFLP-based mapping of the *Sec-2* and *Sec-5* loci encoding 75K g-secalins of rye // Plant Breed. 1998. V. 117. P. 329–333.

Nelson J.C., Sorrels M.E., Van Deynze A.E. *et al.* Molecular mapping of wheat: Major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7 // Genetics. 1995. V. 141. P. 721–731.

O'Donoughue L.S., Kianian S.F., Rayapati P.J. *et al.* A molecular linkage map of cultivated oat // Genome. 1995. V. 38. P. 368–380.

Philipp U., Wehling P., Wricke G. A linkage map of rye // Theor. Appl. Genet. 1994. V. 88. P. 243–248.

Plaschke J., Börner A., Xie D.X. *et al.* RFLP-mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye // Theor. Appl. Genet. 1993. V. 85. P. 1049–1054.

Plaschke J., Korzun V., Koebner R.M.D., Börner A. Mapping of the GA_3-insensitive dwarfing gene *ct1* on chromosome 7R in rye // Plant Breed. 1995. V. 114. P. 113–116.

Priyatkina S.N., Voylokov A.V., Linz A., Fam T.F. Genetic mapping in rye (*S. cereale* L.) // Proc. 9th EWAC Conference, 1995. European Wheat Aneuploid Co-operative Newsletter. P. 134–139.

Röder M.S., Plaschke J., König S.U. *et al.* Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat // Mol. Gen. Genet. 1995. V. 246. P. 327–333.

Saal B., Wricke G. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.) // Genome. 1999. V. 42. P. 964–972.

Senft P., Wricke G. An extended genetic map of rye (*Secale cereale* L.) // Plant Breed. 1996. V. 115. P. 508–510.

Voylokov A.V., Korzun V., Börner A. Mapping of three self-fertility mutations in rye (*Secale cereale* L.) by using RFLP, isozyme and morphological markers // Theor. Appl. Genet. 1997. V. 97. P. 147–153.

Genetic mapping in rye (*Secale cereale* L.) using molecular markers

S.V. Malyshev[1], A.V. Voylokov[2], V.N. Korzun[3], A. Börner[4], N.A. Kartel[1]

[1] Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: S.Malyshev@igc.bas-net.by; [2] Biological Research Institute of St.-Petersburg State University, Stariy Petergof, 198504, St.-Petersburg, Russia; [3] Lochow-Petkus GmbH, PF 1197, 29296 Bergen, Germany; [4] Institute of Plant Genetics and Plant Crop Research, D-06466, Gatersleben, Germany

Summary

Among the cereals, rye (*Secale cereale* L.) can be grown under extreme climatic and poor soil conditions and, is a major crop in North Europe. In the present paper, we report the development of a genetic linkage map of rye using several F_2 mapping populations. The map consist of 139 RFLPs, 19 isozyme and protein markers, 13 microsatellites, 10 known function sequences and 2 morphological genes. The markers are randomly distributed on the seven chromosomes with a maximum of 38 on chromosome 5R and a minimum of 19 on chromosome 3R. In addition, 99 SSR markers, 18 gene loci, and more then 45 quantitative trait loci were aligned to chromosome regions. For some of the mapped or aligned genes comparable loci are present in other cereals.

СОЗДАНИЕ ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ, МАРКИРОВАННЫХ *Vrn*-ГЕНАМИ, И ИХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Л.Н. Каминская[1], Л.В. Корень[1], И.Н. Леонова[2], И.Г. Адонина[2], Л.В. Хотылева[1], Е.А. Салина[2]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: L.Kaminskaya@igc.bas-net.by; [2] Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

На основе изогенных по системе *Vrn*-генов линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) созданы окто- и гексаплоидные линии тритикале (*X Triticosecale* Wittmack), маркированные генами *Vrn*, играющими важную роль в адаптации и продуктивности растений. Данные линии послужили экспериментальной моделью для исследования молекулярно-генетических основ экспрессии *Vrn*-локусов и выяснения причин ее изменчивости у тритикале. Обнаружен ингибирующий эффект генетической среды тритикале на проявление всех доминантных *Vrn*-генов, который является результатом сложных взаимодействий двух родительских геномов пшеницы и ржи.

С помощью микросателлитного анализа и гибридизации *in situ* изучена геномная структура гексаплоидных линий тритикале, выделенных из потомства октоплоидных: все линии имели 28 хромосом пшеницы и 14 хромосом ржи. Обнаруженная у некоторых линий амплификация маркеров D генома связана не с пшенично-ржаными, а пшенично-пшеничными транслокациями, т. е. с интрогрессией D генома в гомеологические хромосомы A и B геномов. Выявленная изменчивость по степени проявления *Vrn*-генов между линиями тритикале внутри отдельных комбинаций скрещивания может быть вызвана влиянием геномов, имеющих разную структуру при одном и том же уровне плоидности.

Введение

Время цветения (или колошения) растений является важным свойством, влияющим на адаптацию и продуктивность, которое учитывается наравне с другими ценными в хозяйственном отношении признаками при проведении селекционных программ. Анализ генов, контролирующих это свойство, и полученные результаты углубляют наше понимание основных принципов развития растений и имеют большое значение в адаптивной селекции. В литературе обсуждаются возможные общие механизмы контроля данного признака у многих видов растений (Laurie, 1997; Snape *et al.*, 2000). Что касается зерновых культур, то наиболее интенсивные исследования молекулярно-генетических основ обсуждаемого признака проводятся у ячменя (*Hordeum vulgare* L.), мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), риса (*Oryza sativa* L.). У мягкой пшеницы генетический контроль этого признака осуществляется двумя системами генов (*Vrn*-генами, контролирующими потребность растений в пониженных температурах – яровизации, и *Ppd*-генами, контролирующими реакцию растений на фотопериод – продолжительность светового дня). Фенотипическая экспрессия данных систем генов достаточно хорошо изучена у мягкой пшеницы. Как показано в исследованиях на этой культуре, *Vrn*-гены играют наиболее важную роль в определении данного признака (их вклад составляет около 75 %) (Стельмах, 1987). Можно предположить, что у тритикале система *Vrn*-генов в конкретных условиях выращивания также играет доминирующую роль в генетическом контроле типа и скорости развития растений и, следовательно, в определении их продуктивности и адаптации. Возникает вопрос, как происходит в данном случае экспрессия *Vrn*-генов и как

изменяется ее степень в зависимости от генетических и внешних факторов. Анализ имеющихся немногочисленных экспериментальных данных до сих пор не дает однозначного ответа на этот вопрос.

Современные молекулярно-генетические методы позволяют генотипировать гибридные геномы злаков, проводить оценку их геномного состава, выявлять хромосомные перестройки и их протяженность, в том числе и в районе локализации изучаемых генов (Galiba *et al.*, 1995; Майстренко и др., 1998; Хлесткина и др., 1999; Салина и др., 2001; Leonova *et al.*, 2003; Collard *et al.*, 2005). Использование таких методов для анализа генома *Triticale* позволит оценить влияние различных генетических факторов на экспрессию *Vrn*-генов.

Необходимость изучения генетической системы *Vrn*-генов у тритикале диктуется и тем обстоятельством, что эта культура находится в процессе становления и адаптации к условиям Беларуси. Яровые формы тритикале в данных условиях характеризуются, как правило, относительной позднеспелостью, что в свою очередь снижает урожай и ухудшает качество семенного материала. В этой связи исследования генетической системы *Vrn*-локусов у тритикале, молекулярно-генетических основ их экспрессии под действием генетических и факторов внешней среды, а также идентификация молекулярных маркеров для генов, влияющих на тип развития, являются актуальными и представляют особый интерес для использования в адаптивной селекции.

Материалы и методы

Материалом для синтеза пшенично-ржаных амфиплоидов с *Vrn*-генами послужили почти изогенные по *Vrn 1–3* линии мягкой пшеницы сортов Triple Dirk (TD) (Pugsley, 1971), Мироновская 808 (М 808), Безостая 1 (Стельмах, 1987), некоторые другие линии с определенными доминантными аллелями локусов этой системы (табл. 1). В качестве опылителя использовали диплоидную озимую рожь Восход (В) и яровую аллоплазматическую рожь (АР), выделенную из популяции F_2 от скрещивания тритикале 6ТА 206 с диплоидной рожью Prolific (Бормотов, 1990).

Для преодоления постгамной несовместимости геномов пшеницы и ржи использовали метод эмбриокультуры. Диплоидизацию амфигаплоидов проводили 0,15 %-ным раствором колхицина в 4 %-ном ДМСО через корневую систему в фазу кущения.

Цитологический анализ растений F_1–F_4 для уточнения их хромосомного числа проводили с использованием «кембриджской методики» (Waninge, 1965). Стабильные окто- и гексаплоидные линии тритикале выделялись из F_5–F_6 поколений, цитологически проверенных растений пшенично-ржаных амфидиплоидов.

Критерием эффекта *Vrn*-генов служил признак «продолжительность периода всходы–колошение» при отсутствии яровизации. Генетические различия, контролируемые системой *Ppd* (фотопериодической чувствительности), исключались условиями проведения полевых опытов при достаточной долготе дня (16–17 часов).

Молекулярно-генетический анализ созданной коллекции линий тритикале проводился с использованием хромосом-специфичных микросателлитных, или SSR, маркеров согласно методике (Röder *et al.*, 1998). Изучались районы локализации *Vrn*-генов у линий тритикале и определялись их кариотипы. Анализировали также 2-ю гомеологическую группу хромосом у линий гексаплоидных тритикале, в которой расположены гены *Ppd*.

Для анализа хромосом A, B и D геномов на каждую хромосому было использовано от 4 до 17 микросателлитных маркеров *Xgwm*, *Xgdm* с известной локализацией в геноме *T. aestivum* (Röder *et al.*, 1998; unpublished data; Pestsova *et al.*, 2000). Для анализа хромосом R использовались микросателлитные маркеры *Xrms* и *Xgwm*, картированные в геноме ржи *Secale cereale* (Korzun *et al.*, 2001; Khlestkina *et al.*, 2004). Кроме того, с помощью геномной гибридизации *in situ* (GISH) дополнена характеристика полученных линий тритикале. GISH анализ проводили в соответствии с методикой (Schubert *et al.*, 1998).

Результаты

Процесс создания окто- и гексаплоидных линий тритикале, использованных в данном

Таблица 1

Генотипы мягкой пшеницы, включенные в скрещивания с рожью при синтезе пшенично-ржаных амфидиплоидов

Линия пшеницы	Сокращения	Генотип пшеницы по системе локусов *Vrn 1–3*
Triple Dirk D	TD D	*Vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Triple Dirk B	TD B	*vrn 1 Vrn 2 vrn 3*
Triple Dirk E	TD E	*vrn 1 vrn 2 Vrn 3*
Triple Dirk F	TD F	*Vrn 1 Vrn 2 vrn 3*
Triple Dirk C	TD C	*vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Мироновская 808-1	M 808-1	*Vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Мироновская 808-2	M 808-2	*vrn I Vrn 2 vrn 3*
Мироновская 808-3	M 808-3	*vrn 1 vrn 2 Vrn 3*
Мироновская 808-12	M 808-12	*Vrn 1 Vrn 2 vrn 3*
Мироновская 808-13	M 808-13	*Vrn 1 vrn 2 Vrn 3*
Мироновская 808-23	M 808-23	*vrn 1 Vrn 2 Vrn 3*
Мироновская 808	M 808	*vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Безостая 1-1		*Vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Безостая 1-3		*vrn 1 vrn 2 Vrn 3*
Thatcher		*Vrn 1 vrn 2 vrn 3*
Белорусская 12		*vrn 1 Vrn 2 vrn 3*
Chinese Spring		*vrn 1 vrn 2 Vrn 3*
Prelude		*Vrn 1 Vrn 2 vrn 3*

исследовании в качестве модельных объектов, включал несколько этапов, описанных выше. Следует подчеркнуть, что полученные на первом этапе пшенично-ржаные амфиплоиды (4*x* = 28) на основе генетически маркированных по системе *Vrn*-линий мягкой пшеницы и форм озимой и яровой ржи были полностью стерильны. Для восстановления их фертильности проводилось удвоение числа хромосом путем обработки растений колхицином (см. Материал и методы). Получено от 8,3 до 37,5 % фертильных амфидигаплоидов (2n = 56) в комбинациях с озимой рожью Восход и от 8,3 до 62,5 % в комбинациях с аллоплазматической рожью (Корень, Каминская, 1995).

Созданные таким образом пшенично-ржаные амфидиплоиды позволили уже на первом этапе получить предварительную информацию об экспрессии анализируемых *Vrn*-генов в генетической среде октоплоидных тритикале. При сравнении продолжительности периода «всходы–колошение» первичных октоплоидных тритикале и соответствующих родительских линий пшеницы обнаружен сильный ингибирующий эффект генетической среды тритикале на экспрессию всех доминантных *Vrn*-генов. Степень проявления генетических эффектов аллелей *Vrn* зависит от конкретного локуса родительской линии пшеницы и доминантных или рецессивных генов, определяющих тип развития растений ржи (Корень, Каминская, 1995).

На следующем этапе исследований был проверен хромосомный состав пшенично-ржаных растений F_1–F_4 и выделены стабильные октоплоидные и гексаплоидные линии тритикале, которые и послужили модельными объектами в данном исследовании (Корень и др., 1998).

В ходе многолетних опытов (2000–2004 гг.), проведенных в условиях Беларуси и Сибири, выявлен ингибирующий эффект генетической среды октоплоидных и гексаплоидных линий тритикале на экспрессию доминантных *Vrn*-генов: в подавляющем большинстве линии тритикале обоих уровней плоидности выколашивались значительно позже, чем соответствующие исходные линии пшеницы

Таблица 2

Отклонения по числу дней до колошения у линий тритикале, маркированных определенными генами системы *Vrn*, от соответствующих родительских линий пшеницы (2000–2004 гг.)

Материал	№ линии	2*n*	2000	2001	2002	2003	2004	Среднее за 5 лет
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Triple Dirk × Аллорожь	2	8*x*	+10	+13	+13	+11	+6	+10,6
	3(9)	6*x*	+6	0	+2	+2	+1	+2,2
Triple Dirk D (*Vrn1*)			**53**	**51**	**50**	**49**	**58**	**52,2**
Triple Dirk B × Восход	4	8*x*	+8	+6	+5	+6	+9	+6,8
	49(10)	6*x*	0	–8	–5	–6	–5	–4,8
	6(1)	6*x*	+15	+6	+4	+17	+9	+10,2
Triple Dirk B × Аллорожь	7	8*x*	+4	+1	+7	+1	+9	+4,4
	8(4)	6*x*	+4	–3	+5	–4	–2	0
Triple Dirk B (*Vrn2*)			**56**	**59**	**59**	**58**	**65**	**59,4**
Triple Dirk F × Аллорожь	11	6*x*	+7	+4	+5	+4	+7	+5,4
Triple Dirk F (*Vrn1 Vrn2*)			**52**	**49**	**49**	**48**	**56**	**50,8**
Triple Dirk C × Аллорожь	46(1)	6*x*	–10	–7	–9	–11	–11	–9,6
Triple Dirk C (*vrn1 vrn2 vrn3*)			**70**	**59**	**66**	**65**	**74**	**66,8**
Мироновская 808–1 × Аллорожь	41(2)	8*x*	+19	+25	+23	+14	+11	+18,4
	42(1)	8*x*	+7	+12	+8	+3	+8	+7,6
	39(6)	6*x*	0	+5	+5	+6	+6	+4,4
Мироновская 808–1 (*Vrn1*)			**56**	**53**	**53**	**53**	**63**	**55,6**
Мироновская 808–2 × Аллорожь	38-4-1	6*x*	–6	–8	0	0	0	–2,8
Мироновская 808–2 (*Vrn2*)			**66**	**65**	**61**	**65**	**74**	**66,2**
Мироновская 808–3 × Восход	50(5)	6*x*	+3	–5	–2	–3	–5	–2,4
Мироновская 808–3 × Аллорожь	61-65	8*x*	+19	+22	+18	+8	+17	+16,8
	60(25)	6*x*	+19	+3	+14	+7	+11	+10,8
Мироновская 808-3 (*Vrn3*)			**53**	**56**	**57**	**57**	**63**	**57,2**
Мироновская 808–12 × Восход	25	8*x*	+20	+5	+8	+13	+8	+10,8
	26	8*x*	+7	+2	+9	+12	+8	+7,6
	23	8*x*	+20	+6	+9	+4	+8	+9,4
	24(2)	6*x*	+7	+5	+6	+13	+8	+7,8

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Мироновская 808–12 × Аллорожь	9	8*x*	+6	+5	+9	+14	+16	+10,0
	9(1)	6*x*	+2	+2	+3	+5	+8	+4,0
Мироновская 808–12 (Vrn1 Vrn2)			**53**	**52**	**52**	**50**	**58**	**53,0**
Мироновская 808–13 × Восход	9	8*x*	+7	+8	+10	+17	+16	+11,6
	50(4)	8*x*	+11	+4	+10	+17	+20	+12,4
	54(22)	8*x*	+7	+15	+10	+18	+12	+12,4
	52(1)	6*x*	+7	+7	+10	+15	+12	+10,2
	9(9)	6*x*	+18	+14	+12	+12	+15	+14,2
	54(7)	6*x*	+3	+8	+9	+9	+12	+8,2
Мироновская 808–13 × Аллорожь	12	8*x*	+18	+7	+8	+10	+8	+10,2
	57(4)	6*x*	+3	+3	+10	+4	+12	+6,4
	55(25)	6*x*	+15	+5	+10	+9	+8	+9,4
Мироновская 808–13 (*Vrn1 Vrn2*)			**53**	**52**	**52**	**50**	**58**	**53,0**
Мироновская 808–23 × Восход	36-1-1	6*x*	+15	+2	+18	+6	+6	+9,4
	36-2-4	6*x*	+23	+11	+18	+13	+8	+14,6
	36-5-5	6*x*	+25	+16	+24	+13	+22	+20,0
Мироновская 808–23 × Аллорожь	10	8*x*	+20	+5	+21	+15	+13	+14,8
Мироновская 808–23 (*Vrn2 Vrn3*)			**55**	**55**	**54**	**52**	**58**	**54,8**

(табл. 2). Причем полученные в Беларуси и Сибири в 2000 г. данные практически полностью совпали.

Степень проявления *Vrn*-аллелей у тритикале зависит от специфики включенных генов *Vrn*. Как показывают данные таблицы 2, доминантные гены *Vrn 1* или *Vrn 1 Vrn 2*, определяющие ранние сроки колошения у пшеницы, ингибируются в большей степени генетической средой тритикале, чем гены *Vrn 2 и Vrn 3*, ответственные за более позднее колошение. Кроме того, в большинстве случаев позже выколашивались линии тритикале, где в качестве отцовского компонента скрещивания использовали озимую рожь (Корень, Каминская, 1995).

В пределах отдельных комбинаций скрещивания октоплоидные линии, как правило, выколашивались позже гексаплоидных. Возможно, в данном случае сказывается, с одной стороны, влияние уровня плоидности тритикале, а с другой – влияние более сложных взаимодействий, связанных с наличием генома D у октоплоидных линий (Khotyljova *et al.*, 1998).

Известно, что гены *Ppd* влияют на период колошения только в случае короткого светового дня. Однако данный факт не исключает возможности взаимодействия или влияния генов *Vrn* и *Ppd* друг на друга, особенно принадлежащих геномам разных злаков. В наших исследованиях было показано, что хотя основной эффект на скорость колошения растений пшеницы и тритикале оказывает система *Vrn*-генов, но взаимодействие генов данной системы с *Ppd*-генами в некоторых случаях также имеет существенное влияние (Khotyljova *et al.*, 2002). По этой причине эффект доминантных *Vrn*-генов в разных по *Ppd*-аллелям генофонах может изменяться при определенных условиях. Так, линии фотонейтрального сорта пшени-

цы Triple Dirk и тритикале, созданные на их основе, выколашивались раньше, чем яровые аналоги пшеницы и линии тритикале, созданные на основе фоточувствительного сорта Мироновская 808.

В пределах отдельных комбинаций у гексаплоидных линий тритикале наблюдалась значительная изменчивость ЧДК, которая могла быть обусловлена разным геномным составом этих линий. Поскольку 42-хромосомные растения тритикального типа выделялись из потомства анеуплоидных растений октоплоидных тритикале и поэтому могли иметь сложную комбинацию пшенично-ржаных хромосом (Корень и др., 1998).

Для изучения хромосомного состава кариотипов гексаплоидных линий тритикале был проведен молекулярный анализ с помощью SSR маркеров, специфичных для пшеницы и ржи.

Сравнительный анализ амплификации пшеничных SSR маркеров в геноме ржи показал, что только 15 % маркеров, локализованных на A и D хромосомах, амплифицировали фрагменты. Для маркеров B генома наблюдался более высокий % амплификации (до 30 %). Сравнение спектров амплификации микросателлитных маркеров у линий тритикале и их родительских форм позволило сделать вывод о присутствии A и B хромосом мягкой пшеницы у всех линий тритикале (табл. 3).

У 4 линий тритикале не было обнаружено амплификации фрагментов, специфичных для маркеров D генома, что свидетельствовало об отсутствии D хромосом у гексаплоидных линий тритикале. Однако у двух линий 49 (10) и 9 (9), полученных, соответственно, на основе скрещивания линий Triple Dirk B и Мироновская 808-13 с озимой рожью сорта Восход, была обнаружена амплификация фрагментов, специфичных для маркеров длинного плеча 2D хромосомы. Амплификация 5 маркеров, локализованных на хромосоме 7D, была выявлена у второй линии из комбинации Triple Dirk B × Восход, линии 6(1).

Для анализа хромосом ржи у линий тритикале были использованы микросателлитные маркеры, картированные на ржаных хромосомах. Все ржаные маркеры амплифицировали фрагменты как у тритикале, так и у ржаных родителей, при этом у пшеничных родителей амплификация отсутствовала. Данные, полученные с использованием ржаных маркеров, свидетельствовали о том, что все линии тритикале содержат гомеологические хромосомы ржи в полном составе. По данным GISH анализа все исследованные линии тритикале являются гексаплоидными и несут по 14 хромосом ржи. При этом в линии 6(1) отмечено присутствие пары субакроцентрических ржаных хромосом, в генотипе линии 9(9) на отдельных метафазных пластинках наблюдается появление дополнительной непарной телоцентрической хромосомы ржи. Транслокаций и рекомбинаций между пшеничными и ржаными хромосомами не обнаружено.

Обсуждение

Наличие амплификации ряда маркеров D генома у некоторых гексаплоидных линий тритикале позволило предположить, что в процессе образования линий могли происходить рекомбинации между ржаными и пшеничными хромосомами. Для выяснения этого был проведен анализ тритикале методом геномной *in situ* гибридизации (GISH). Однако молекулярный анализ и гибридизация *in situ* показали наличие A и B геномов пшеницы, R хромосом ржи и отсутствие пшенично-ржаных транслокаций. Исследованные линии являются гексаплоидными и несут 28 хромосом пшеницы и 14 хромосом ржи. Следовательно, амплификация маркеров D генома связана не с пшенично-ржаными, а пшенично-пшеничными транслокациями, т. е. с интрогрессией D генома в гомеологические хромосомы пшеницы. Не исключено, что подобные транслокации могут происходить в процессе образования исследуемых гексаплоидных тритикале, поскольку они выделены из анеуплоидного потомства октоплоидных форм (Корень и др., 1998). Показано существование широкого спектра 1A/1D и 1B/1D рекомбинаций и транслокаций в процессе получения замещенных гексаплоидных линий тритикале, содержащих 1D хромосому (Hohmann *et al.*, 1999). Обнаружена амплификация фрагментов, специфичных для микросателлитных маркеров D-генома (Tams *et al.*, 2004): 3 из 39 D-геномных маркеров амплифицировали

Таблица 3

Молекулярный анализ хромосомного состава гексаплоидных линий тритикале

Комбинация	№ d	1, 3–6-я группы				2-я группа				7-я группа			
		A	B	D	R	A	B	D	R	A	B	D	R
TD D × Аллорожь (*Vrn 1*)	3(9) +4	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	+
TD B × Восход (*Vrn 2*)	6(1) +9	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	*Xgwm1250* *Xgwm1002* *Xgwm1044* Xgwm676 *Xgwm428*	+
TD B × Восход (*Vrn 2*)	49(10) –	+	+	–	+	+	+	*Xgwm102* *Xgwm539* *Xgwm846* *Xgwm991*	+	+	+	–	+
M 808-1 × Аллорожь (*Vrn 1*)	39(6) +8	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	+
M 808-12 × Восход (*Vrn1 Vrn 2*)	24(2) +10	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	+
M 808-12 × Восход (*Vrn1 Vrn 2*)	70(1) +6	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	+
M 808-13 × Восход (*Vrn1 Vrn 3*)	9(9) +16	+	+	–	+	+	+	*Xgwm539* *Xgwm846* *Xgwm991*	+	+	+	–	+

+/– обозначает наличие/отсутствие амплификации маркеров, расположенных на соответствующих хромосомах пшеницы или ржи; *Xgwm…* – амплификация фрагмента, специфичного для данного маркера; d – отклонение по ЧДК линии тритикале от родительской линии пшеницы.

фрагменты у гексаплоидных видов тритикале. Интересным является тот факт, что данные маркеры также локализованы на 2D и 7D хромосомах.

Данные по срокам колошения исследованных линий тритикале свидетельствовали о том, что у большинства линий происходит увеличение периода колошения по сравнению с родительскими сортами пшеницы (табл. 2, 3), при этом наблюдались как меж-, так и внутригрупповые отличия несущих одну систему *Vrn* (Kaminskaya *et al.*, 2002). По-видимому, эти различия не связаны с наличием пшенично-ржаных транслокаций в районах локализации генов *Vrn*, а вызваны влиянием хромосом ржи на проявление *Vrn*-генов пшеницы вследствие изменения геномного состава тритикале. Ранее нами изучено влияние пшенично-ржаных замещений на экспрессию гена *Vrn 1*. Показано, что замена D-хромосомы на R у мягкой пшеницы Thatcher увеличивает сроки выколашивания (Каминская и др., 1999). С другой стороны, маркеры D-генома, амплификация которых выявлена у линий 49(10) и 9(9), картированы в районе локализации гена *Ppd 1*, возможно, оказывают влияние на сроки выколашивания этих линий. Этим также могут объясняться различия по изучаемому признаку между линиями 6(1) и 49(10), имеющими одну систему генов *Vrn*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что микросателлитные маркеры, специфичные для пшеницы и ржи, могут эффективно использоваться для анализа хромосомного состава, выявления рекомбинаций и транслокаций у тритикале. Результаты являются основанием для объяснения изменчивости экспрессии *Vrn*- и *Ppd*-генов в генетической среде тритикале.

Литература

Бормотов В.Е., Дубовец Н.И., Щербакова А.М., Бадаев Н.С. Тетраплоидные тритикале. Минск: Навука і тэхніка, 1990. С. 36–37.

Каминская Л.Н., Корень Л.В., Хотылева Л.В. Влияние D/R замещений у пшеницы сорта Thatcher на экспрессию доминантного гена *Vrn 1* // Докл. НАН Беларуси. 1999. Т. 43. С. 66–69.

Корень Л.В., Каминская Л.Н. Пшенично-ржаные амфидиплоиды с *Vrn* генами: влияние генетической среды тритикале на экспрессию этих генов // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. 1995. № 4. С. 44–51.

Корень Л.В., Каминская Л.Н., Хотылева Л.В. Цитологическое исследование пшенично-ржаных амфиплоидов с включением *Vrn* генов // Докл. НАН Беларуси. 1998. Т. 42. С. 79–84.

Майстренко О.И., Ефремова Т.Т., Салина Е.А., Шумный В.К. Открытие и изучение непроявления гена ярового образа жизни ржи *Sp1* в линиях с чужеродным замещением хромосомы 5R(5A) // Докл. РАН. 1998. Т. 360, № 4. С. 574–576.

Салина Е.А., Леонова И.Н., Родер М. и др. Микросателлиты пшеницы: перспективы использования для картирования генов и анализа реконструированных геномов // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 441–446.

Стельмах А.Ф. Наследование и генетическая роль различий по типу и скорости развития у мягкой пшеницы: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1987.

Хлесткина Е., Салина Е.А., Леонова И. и др. Использование RAPD и STS анализа для маркирования генов 5 гомеологической группы хромосом мягкой пшеницы // Генетика. 1999. Т. 35, № 8. С. 1–9.

Collard B.C.Y., Jahufer M.Z.Z., Broywer J.B., Pang E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts // Euphytica. 2005. V. 142. P. 169–196.

Hohmann U., Zoller J., Hermann R.G., Kazman M.E. Physical mapping and molecular-cytogenetic analysis of substitutions and translocations involving chromosome 1D in synthetic hexaploid triticale // Theor. Appl. Genet. 1999. V. 98. P. 647–656.

Galiba G., Quarrie S.A., Sutka J. *et al.* RFLP mapping of the vernalization (*Vrn 1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat // Theor. Appl. Genet. 1995. V. 90. P. 1174–1179.

Khotyljova L.V., Kaminskaya L.N., Koren L.V. Influence of genetic systems of *Vrn*- and *Ppd* genes on the ecological adaptation of wheat and triticale // Pradzia. LEIDINIAL. Biologija. 2002. N 4. P. 45–48.

Kaminskaya L.N., Koren L.V., Salina E.A. *et al.* Expression of *Vrn* genes in triticale and some of their molecular-genetic aspects // Proc. 5th Intern. Triticale Symposium. Poland, 2002. V. 2. P. 103–110.

Khlestkina E.K., Than M.H.M., Pestsova E.G. *et al.* Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P. 725–732.

Khotyljova L.V., Koren L.V., Kaminskaya L.N. Development and study of spring triticale lines with *Vrn* genes // Proc. 4th Intern. Triticale Symposium. Alberta, Canada. 1998. P. 21–23.

Korzun V., Malyshev S., Voylokov A.V., Börner A. A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 102. P. 709–717.

Laurie David A. Comparative genetics of flowering time // Plant Molecular Biology, Kluwer Academic. Publishers. 1997. V. 35. P. 167–177.

Leonova I., Pestsova E., Salina E. *et al.* Mapping of the *VrnB1* gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers // Plant Breeding. 2003. V. 122. P. 209–212.

Pestsova E., Ganal M.W., Röder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat // Genome. 2000. V. 43. P. 689–697.

Pugsley T.A. A genetic analysis of the spring-winter growth habit in wheat // Austral. J. Agr. Res. 1971. V. 22, N 1. P. 21–31.

Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. *et al.* A microsatellite map of wheat // Genetics. 1998. V. 149. P. 2007–2009.

Schubert, I., Shi F., Fuchs J., Endo T.R. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat // Plant J. 1998. V. 14. P. 489–495.

Snape J.W., Laurie D.A., Worland A.J. Mapping and comparative mapping of time genes in wheat // Abstracts of the 11th EWAC conference dedicated to the memory of O.I. Maystrenko, 24–28, July, 2000, Novosibirsk, Russia. P. 13–14.

Tams S.H., Bauer E., Qettler G., Melchinger A.E. Genetic diversity in European winter triticale determined with SSR markers and coancestry coefficient // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 108. P. 1385–1391.

Waninge G.J. A modified method of counting chromosomes on root tip cells of wheat // Euphytica. 1965. V. 14, N 3. P. 249–256.

Development of triticale lines tagged with *Vrn* genes and their molecular-genetic study

L.N. Kaminskaya[1], L.V. Koren[1], I.N. Leonova[2], I.G. Adonina[2], L.V. Khotyleva[1], E.A. Salina[2]

[1] Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus, e-mail: L.Kaminskaya@igc.bas-net.by; [2] Institute of Cytology and Genetics of SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia, e-mail: salina@bionet.nsc.ru

Summary

Based on the *Vrn* gene system isogenic lines of common wheat (*Triticum aestivum* L.), octo-and hexaploid triticale lines (X *Triticosecale Wittmack*), tagged with *Vrn* genes playing an important role in adaptation and productivity of plants, were developed. The given lines served as an experimental model for studying molecular-genetic principals of *Vrn* locus expression and for finding out its variation in triticale. The inhibiting effect of triticale background on the expression of all dominant *Vrn* genes, which results from complicated interaction between two parental genomes of wheat and rye, was revealed.

The genomic structure of hexaploid triticale lines isolated from the octoploid offspring (all lines had 28 wheat chromosomes and 14 rye chromosomes) was studied by the microsatellite analysis and in situ hybridization. Amplification of D genome markers found in some lines was related to wheat-wheat translocations and not with wheat-rye ones, i.e. with introgression of D genome into homeologous chromosomes of A- and B genomes. The revealed variation in degree of *Vrn* gene expression among triticale lines within individual crossing combination may be caused by the effect of genomes having a different structure at the same ploidy level.

RAPD-АНАЛИЗ МЕЖВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЛЬНА (РОД *Linum*)

В.А. Лемеш, М.В. Шут, Л.В. Хотылева

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь,
e-mail: V.Lemesh@igc.bas-net.by

Цель работы состояла в уточнении таксономического статуса некоторых видов льна и филогенетических взаимоотношений между ними с помощью молекулярных маркеров. Показано, что молекулярно-генетический анализ дает возможность выявить специфические RAPD-маркеры генома льна, которые могут использоваться для видовой идентификации генотипов. Метод молекулярного маркирования генома на основе RAPD-PCR позволяет определить таксономический статус представителей рода *Linum* и установить филогенетические взаимоотношения между различными видами льна. Целенаправленное использование видоспецифичных праймеров позволит исследователям сократить затраты труда и средств, необходимые для анализа коллекционных образцов.

Введение

Виды рода *Linum* L. имеют широкое географическое распространение во всех областях земного шара. До настоящего времени не существует однозначного мнения по числу видов в роде. Различные исследователи насчитывают от 100 до 300 видов (Ray, 1944; Флора СССР, 1949; Hickey, 1988; Флора Восточной Европы, 1996). Причиной различных мнений может быть не только внутривидовой полиморфизм, но и существующая многочисленная и довольно запутанная синонимика, а также разные подходы исследователей к определению вида. Таксономическое описание рода *Linum* дает не много сведений о взаимоотношениях и эволюции внутри рода. Традиционная систематика основана на географическом принципе и морфологических признаках (структура цветка, окраска лепестков, характер расположения листьев и т. д.), которые не всегда верно определяют положение таксона. Для некоторых видов она уточнялась на основании числа хромосом. Было обнаружено, что число хромосом у льна колеблется от 12 до 64 и более (Darlington, Wylie, 1955), хромосомы мелкие и имеют сходную морфологию. Попытка уточнить систематику видов рода *Linum* с помощью сравнительного анализа морфологии семян, пыльцевых зерен и монохромно окрашенных кариотипов не разрешила спорных вопросов (Ray, 1944; Хржановский и др., 1979; Chennaweeraiah, Joshi, 1983). Межвидовые взаимоотношения культивируемого льна *Linum usitatissimum* L. и его близкородственных видов *Linum bienne* Mill. и *Linum angustifolium* Huds. были охарактеризованы с помощью молекулярных и хромосомных маркеров (Fu *et al.*, 2002; Муравенко и др., 2003). Тем не менее многие вопросы систематики и филогении рода *Linum* трактуются неоднозначно. Для уточнения систематики рода необходимо применение новых современных методов исследования генома, которые позволили бы прояснить нерешенные вопросы.

В последние годы для изучения генетических связей у растений, межвидовой и внутривидовой идентификации широко используется метод маркирования генетического материала путем амплификации ДНК с произвольными праймерами (RAPD-PCR) (Williams *et al.*, 1990). Ранее нами была проведена оценка генетического родства четырех диких видов и нескольких коллекционных образцов представителей рода *Linum* с использованием молекулярных маркеров на основе RAPD-PCR (Lemesh, Khotyleva, 2000; Lemesh *et al.*, 2001). Было показано, что морфологически

трудноразличимые виды *L. perenne* и *L. austriacum* (2*n* = 18) по RAPD-профилям четко дифференцированы. По данным RAPD-анализа определено систематическое положение льна-прыгунца *L. crepitans* (Boenn.) Dumort (2*n* = 30, 32). Это растение рассматривалось либо как разновидность, либо как подвид *L. usitatissimum* или *L. dehiscens* (Флора Восточной Европы, 1996). По результатам наших исследований сделан вывод, что лен-прыгунец принадлежит к *L. usitatissimum* и генетически близок с примитивными формами (ландрасами).

Цель данной работы состояла в уточнении таксономического статуса некоторых видов льна и филогенетических взаимоотношений между ними с помощью молекулярных маркеров.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили 17 диких видов рода *Linum*, полученные из Генетического банка растений (г. Гатерслебен, Германия), и вид культурного льна *L. Usitatissimum* (таблица). Число хромосом указано согласно данным литературы (Ray, 1944; Gill, Yermanos, 1967; Chennaweeraiah, Joshi, 1983; Флора Восточной Европы, 1996).

ДНК выделяли из листьев и проростков

Таблица

Изученные образцы льна, число хромосом и полученных RAPD-фрагментов

№ п/п	Виды	Число хромосом	RAPD-фрагменты	
			общее количество	уникальные
1	*L. grandiflorum* Desf.	2*n* = 16	169	11
2	*L. austriacum* L. subsp. *austriacum*	2*n* = 18	166	0
3	*L. perenne* L.	2*n* = 18	161	1
4	*L. tenuifolium* L.	2*n* = 16	138	7
5	*L. suffruticosum* L. subsp. *salsoloides* (Lam.)	неизвестно	125	7
6	*L. thracicum* Degen	неизвестно	134	0
7	*L. lewisii* Pursh	2*n* = 18	103	3
8	*L. capitatum* Kit. ex Schultes	2*n* = 34	42	0
9	*L. altaicum* Ledeb.	2*n* = 18	151	0
10	*L. hirsutum* L. *subsp. hirsutum*	2*n* = 16	101	0
11	*L. nodiflorum* L.	2*n* = 26	164	5
12	*L. narbonense* L.	2*n* = 20	94	5
13	*L. stelleroides* Planch.	неизвестно	148	6
14	*L. tauricum* Willd.	неизвестно	144	2
15	*L. komarovii* Juss.	2*n* = 16	152	2
16	*L. leonii* F.W. Schultz	2*n* = 18	139	5
17	*L. campanulatum* L.	2*n* = 16	143	5
18	*L. usitatissimum* L.	2*n* = 30	184	16

различных видов льна. Растительный материал измельчали в присутствии жидкого азота, суспендировали в экстракционном буфере следующего состава: 100 мМ Tris-HCl, pH 8,5; 100 мМ NaCl; 50 мМ EDTA, pH 8,0; 2 % SDS. После добавления протеиназы К (до конечной концентрации 0,05 мг/мл) образцы инкубировали 1–1,5 час в зависимости от количества растительного материала при 65 ºС, периодически перемешивая. После экстракции фенол-хлороформовой смесью в соотношении (1 : 1) супернатант переносили в другие пробирки. ДНК осаждали добавлением 0,6–0,8 объема изопропилового спирта с последующим центрифугированием. ДНК промывали в 70 %-ном этиловом спирте, подсушивали и растворяли в ТЕ буфере (10 мМ Tris-HCl, pH 7,5; 1 мМ EDTA). Растворенную ДНК обрабатывали РНКазой 1 час при 37 ºС. Затем вторично очищали экстракцией в фенол-хлороформовой смеси и осаждали добавлением двух объемов этанола с последующим растворением в стерильном ТЕ буфере. Полученную ДНК анализировали в 0,8 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Количество ДНК в образце определяли на спектрофотометре Ultrospec 3300 pro.

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 20 нг геномной ДНК, 0,2 мкМ праймера, 200 мкМ каждого: dATP, dCTP, dGTP и dTTP, 2,5 мМ $MgCl_2$ и 1,5 единиц Taq-полимеразы в инкубационном буфере. Для RAPD-анализа использовали олигонуклеотидные праймеры – 20 серий UBC (University of British Columbia): 73, 101, 153, 209, 239, 244, 290, 292, 301, 337, 396, 403, 417, 448, 465, 499, 556, 574, 586, 731 и 6 праймеров серии Oligo – 1, 6, 7, 8, 11, 15. ПЦР проводили в амплификаторе Perkin Elmer в следующих условиях: цикл 1 – 5 мин при 95 ºС; циклы 2 – 35, 1 мин при 94 ºС, 1 мин при 36 ºС и 2 мин при 72 ºС; цикл 36 – 7 мин при 72 ºС. Продукты реакции разделяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле с добавлением этидиум бромида и документировали с помощью системы Bio-Rad GelDoc2000. Размеры амплифицированных фрагментов определяли при использовании в качестве маркера 1 kb DNA ladder (BRL).

Статистический анализ включал составление бинарных матриц по каждому из праймеров, в которых отмечалось «присутствие» (1) или «отсутствие» (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Каждый RAPD-фрагмент рассматривался как отдельный генетический локус. Характер и степень RAPD изменчивости анализировали в отношении праймера и образца. На основании суммарной матрицы RAPD-спектров с помощью программного пакета PhylTools были определены генетические дистанции между исследуемыми образцами. Для построения дендрограммы, демонстрирующей филогенетические отношения между изученными образцами льна по результатам RAPD-анализа, применили метод невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA) с использованием программы PhylTools.

Результаты и обсуждение

При проведении RAPD-PCR были использованы 26 эффективных произвольных декамерных праймеров, с помощью которых оценивали межвидовое генетическое разнообразие льна. Основная зона разделения фрагментов находилась в пределах 2000–200 п.н. В целом учитывалось 2458 амплифицированных фрагментов. Четыре праймера установили наличие мономорфных фрагментов у исследуемых образцов (UBC 209 – около 500 п.н., UBC 448 – около 700 п.н, UBC 499 – около 1600 п.н., UBC 556 – около 500 п.н.). Данные мономорфные фрагменты могут считаться RAPD-маркерами для представителей рода *Linum*. Чем больше генетическая дистанция между исследуемыми видами, тем меньше у них общих продуктов амплификации. Выявляемые при электрофорезе мономорфные полосы у близких видов предполагают общность структурно-функциональной организации геномов этих видов. Каждый из видов имел свой определенный спектр амплифицируемых RAPD-продуктов, отличающийся от других количеством фрагментов, их размером и степенью выраженности. Некоторые праймеры выявили присущие только одному конкретному виду ампликоны и, следовательно, являются видоспецифичными.

Число суммарных зон, полученных при амплификации ДНК 18 изученных видов

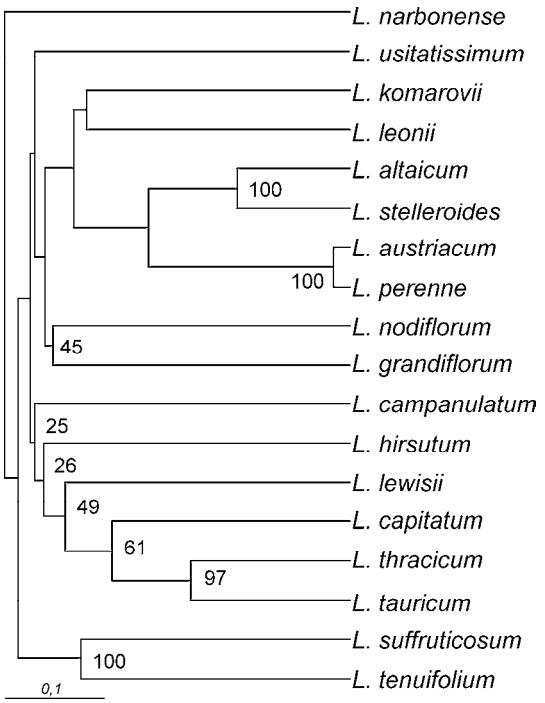

Рис. Дендрограмма филогенетических взаимоотношений между представителями рода *Linum*, построенная на основании анализа генетических дистанций.

льна с каждым из праймеров, варьирует от 1 до 11. Отмечены существенные различия по количеству RAPD-фрагментов между изученными видами. Исследуемые образцы различались также по числу уникальных, характерных только для одного вида ампликонов. Наибольшее их количество присутствует у *L. usitatissimum* – 16 (8,7 %) и *L. grandiflorum* 11 (6,0 %). У некоторых видов уникальных фрагментов не отмечено (табл.).

Для количественной оценки RAPD-полиморфизма и определения уровня дивергенции между изученными видами льна полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которых наличие или отсутствие в RAPD-спектрах одинаковых по размеру ампликонов рассматривалось как состояние 1 и 0 соответственно. По матрицам состояний были рассчитаны матрицы различий с использованием коэффициента Жаккарда (Jaccard, 1908). На основе матрицы невзвешенным парно-групповым методом кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA) была построена дендрограмма генетического подобия между изученными образцами льна (рис.).

Уровень различий по величине расстояния Жаккарда между исследуемыми образцами варьирует от 0,171 (между *L. austriacum* и *L. perenne*) до 0,867 (между *L. narbonense* и *L. altaicum*).

Виды *L. tenuifolium* и *L. suffruticosum*, *L. perenne* и *L. austriacum* слабо морфологически обособлены друг от друга и иногда на основании морфологических данных отождествляются. По данным RAPD-анализа (значения бутстрепа 100 %) виды дифференцированы, несмотря на некоторую степень гомологии как по количеству, так и по размерам фрагментов. Как следует из представленной дендрограммы, правомерно объединить в одну секцию виды *L. tauricum*, *L. thracicum*, *L. capitatum*. Виды *L. grandiflorum*, *L. nodiflorum*, *L. perenne*, *L. austriacum*, *L. stelleroides*, *L. altaicum*, *L. leonii*, *L. komarovii* группируются вместе и наиболее близки в генетическом отношении к возделываемому виду *L. usitatissimum*. Наиболее удален в генетическом отношении вид *L. narbonense*.

Следует отметить, что в один кластер попадают виды, резко отличающиеся хромосомным набором (табл.). Возможно, специализация в пределах рода *Linum* шла двумя путями: в развитии групп с разным набором хромосом сыграла роль полиплоидия, внутри групп обособление видов происходило за счет хромосомных перестроек. Можно полагать, что хромосомный набор n = 8 у *L. grandiflorum* и *L. hirsutum* произошел от n = 9 путем нисходящей анеуплоидии, n = 10 у *L. narbonense* – путем восходящей анеуплоидии, n = 15 у культурного вида *L. usitatissimum* является результатом полиплоидизации. Вероятно также, что n = 15 и n = 16 произошли также от предка с n = 9. Хромосомный набор *L. capitatum* (n = 17) может быть объяснен происхождением от 8–9 хромосом.

Таким образом, молекулярно-генетический анализ дает возможность выявить специфические геномные маркеры, которые могут использоваться для видовой идентификации генотипов. Показано, что метод молекулярного маркирования генома на основе RAPD-PCR позволяет определить таксономический статус представителей рода *Linum* и установить филогенетические взаи-

моотношения между различными видами льна. Целенаправленное использование видоспецифичных праймеров позволит исследователям сократить затраты труда и средств, необходимые для анализа коллекционных образцов.

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН проф. А.В. Зеленину, с.н.с. О.В. Муравенко за сотрудничество.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (Б02Р-024) и ГПОФИ «Современные науки о жизни».

Литература

Муравенко О.В., Лемеш В.А., Саматадзе Т.Е. и др. Сравнение геномов трех близкородственных видов льна и их гибридов с использованием хромосомных и молекулярных маркеров // Генетика. 2003. Т. 39, № 4. С. 510–518.

Флора Восточной Европы. Т. 9. Покрытосеменные / Под ред. Н.Н. Цвелева. С.-Пб., 1996. 456 с.

Флора СССР. Т. 14 / Под ред. Б.К. Шишкина. М.; Л., 1949. 348 с.

Хржановский В.Г., Пономаренко С.Ф., Догузашвили В.А. К вопросу о происхождении и эволюции рода *Linum* L. сем. Linaceae // Изв. АН СССР. Сер. биол. № 5. 1979. С. 696–713.

Chennaweeraiah M.S., Joshi K.K. Kariotypes in cultivated and wild species of *Linum* // Cytologia. 1983. V. 48. P. 833–841.

Darlington C.D., Wylie A.P. Chromosome Atlas of Flowering Plants. London, George Allen and Unwin, 1955.

Fu Y.-Bi, Peterson G., Diederichsen A., Richards K.W. RAPD analysis of genetic relationships of seven flax species in the genus *Linum* L. // Genetic Resources and Crop Evolution. 2002. V. 49. P. 253–259.

Gill K.S., Yermanos D.M. Cytogenetic studies of the genus *Linum* L. Hybrids among taxa with 15 as the haploid chromosome number // Crop Sci. 1967. V. 7. P. 623–631.

Hickey M. 100 Families of Flowering Plants. Cambridge: University Press, 1988.

Jaccard P. Nouvelles researches sur la distribution florale // Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat. 1908. V. 44. P. 223–270.

Lemesh V.A., Khotyleva L.V. Phylogenetic relationships among varieties of cultivated flax and its wild relatives // Proc. of the Int. Sci. Conf. «Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia». V. 1. 2000. P. 70–72.

Lemesh V.A., Malyshev S.V., Grushetskaya Z.E., Khotyleva L.V. DNA polymorphism and phylogeny of flax // Proc. of the 2th Global Workshop of the FAO European Cooperative Research Network on Flax and other Bast Plants, Borovets, Bulgaria, June 3–6, 2001. P. 139–145.

Ray C. Cytological studies on the flax genus *Linum* L. // Amer. J. Bot. 1944. V. 31. P. 326–330.

Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J. *et al*. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucl. Acids Res. 1990. V. 18, N 22. P. 6531–6535.

Use of RAPD markers for the study of interspecies variability in flax (genus *Linum* L.)

V.A. Lemesh, M.V. Shut, L.V. Khotyleva

Institute Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: V.Lemesh@igc.bas-net.by

Summary

The aim of the work was to elucidate the taxonomic status of some flax species and phylogenetic relationships between them by molecular markers. Molecular-genetic analysis was shown to reveal specific RAPD markers of flax genome which may be used for species genotype identification. The molecular genome tagging based on RAPD-PCR makes it possible to determine the taxonomic status of Linum representatives and to establish phylogenetic relationships between different flax species. The purposeful use of the species-specific markers allows the researchers to reduce the labor and financial expenses needed for the analysis of the collection samples.

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСМИССИИ УНИВАЛЕНТНОЙ ХРОМОСОМЫ 5R ЧЕРЕЗ ГАМЕТЫ ДИ-МОНОСОМИКА 5D-5R

Н.И. Дубовец[1], О.Г. Силкова[2], А.И. Щапова[2], Л.А. Соловей[1], Т.И. Штык[1]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by; [2] Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

Изучена частота трансмиссии унивалентных хромосом 5D и 5R через гаметы ди-моносомика 5D-5R. Выявлена зависимость характера передачи чужеродной хромосомы 5R от условий внешней среды. Показано, что воздействие стрессовых факторов приводит к различным структурным изменениям 5R хромосомы, обусловленным особенностями функционирования ее центромерного района. Высказано предположение, что появление в потомстве ди-моносомика 5R хромосомы с делецией терминального участка длинного плеча является следствием активизации неоцентромерного района.

Введение

Несмотря на появление трансгенных технологий, отдаленная гибридизация продолжает оставаться наиболее эффективным приемом интродукции чужеродной генетической изменчивости в геном мягкой пшеницы. Одним из способов такой интродукции является создание замещенных линий, содержащих, как правило, одну пару хромосом родственного пшенице вида, заместившую соответствующую пару ее хромосом. Установлено, что чужеродное замещение происходит в строгом соответствии с гомеологией хромосом (Gupta, 1971; Щапова и др., 1987). В то же время частота встречаемости межгеномных замещений по разным хромосомам различна (May, Appels, 1982; Merker, 1984; Щапова, Кравцова, 1990; Дубовец и др., 1995), что указывает на избирательность процесса трансмиссии чужеродных хромосом через гаметы. Однако до сих пор не ясно, какие причины лежат в основе всех этих явлений.

В своих исследованиях мы поставили задачу на примере пшенично-ржаных замещенных линий выявить механизмы мейотического цикла, обеспечивающие успешный перенос чужеродного генетического материала. Необходимым этапом этих исследований являлось изучение частоты передачи индивидуальных унивалентных хромосом через гаметы пшенично-ржаных ди-моносомиков. В данной статье обсуждаются результаты, полученные в ходе анализа потомства пшенично-ржаного ди-моносомика 5D-5R, позволяющие судить о частоте трансмиссии через гаметы унивалентных хромосом 5D и 5R. При этом большое внимание уделено особенностям поведения чужеродной хромосомы.

Материалы и методы

Для получения экспериментального материала пшенично-ржаная замещенная линия 5R(5D) была беккроссирована исходным сортом пшеницы Саратовская 29. В результате были синтезированы 42-хромосомные формы (ди-моносомики), содержащие в своем кариотипе 20 пар гомологичных хромосом пшеницы и одну пару гомеологов 5D-5R. Часть растений выращивалась в полевых условиях, другая часть – в теплице. Анализ хромосомного состава полученного потомства ди-моносомика проводился с помощью метода дифференциального окрашивания хромосом по Гимза (Бадаев и др., 1983).

Результаты и обсуждение

В ходе формирования гамет в мейозе F_1 пшенично-ржаных ди-моносомиков гомологичные хромосомы пшеницы образуют биваленты, а хромосомы из гомеологичной пары остаются в унивалентном состоянии. В случае их редукционного деления в анафазе I (когда хромосома не претерпевает эквационного деления в области центромеры и отходит к одному из полюсов) образуется четыре типа гамет: 20W, 20W+R, 21W+R и 21W+R. Их сочетание в процессе оплодотворения приводит к формированию в F_2 ди-моносомиков 9 классов генотипов:

1) 40W (нуллисомик по замещенной хромосоме пшеницы);
2) $40W+R^{I}$;
3) $40W+R^{II}$;
4) 41W (моносомик по замещенной хромосоме пшеницы);
5) $41W+R^{I}$;
6) $41W+R^{II}$;
7) 42W (исходная мягкая пшеница);
8) $42W+R^{I}$;
9) $42W+R^{II}$.

Если же унивалентные хромосомы в F_1 ди-моносомика подвергаются в анафазе I мейоза эквационному делению (сестринские хроматиды, образовавшиеся в результате эквационного деления хромосомы в области центромеры, отходят к разным полюсам клетки), количество ожидаемых в F_2 классов генотипов существенно уменьшается. Это связано с тем, что хромосомы, разделившиеся на хроматиды, часто остаются невключенными во вновь образованные ядра второго мейотического деления (Щапова и др., 1995; Силкова и др.,1999). Если эквационному делению подвергается только унивалентная хромосома ржи, то в потомстве ди-моносомика следует ожидать существенное преобладание 1, 4 и 7-го классов, причем наиболее многочисленным будет 4-й. При эквационном делении унивалентной хромосомы пшеницы в потомстве будут преобладать 1, 2 и 3-й классы при наибольшей численности 2-го.

В исследованном нами материале, выращенном в полевых условиях, были выявлены все классы генотипов, за исключением 9-го. С наибольшей частотой встречались 3-й (25,0 %) и 5-й классы (18,7 %), затем следовали 2-й, 4-й и 7-й (по 12,5 %). Наименьшая частота встречаемости (6,2 %) отмечена для растений 1-го, 6-го и 8-го классов. Полученное распределение генотипов по классам в большей степени соответствует картине, наблюдаемой при редукционном делении унивалентных хромосом.

Из 16 проанализированных растений 5R-хромосому содержали 11, причем в 5 из них она присутствовала в дисомном состоянии. 5D-хромосома в дисомном состоянии была обнаружена у 3 растений, а в моносомном – у 6.

В общей сложности в кариотипах растений содержалось 16 5R-хромосом. Из них лишь 7 имели нормальную структуру, а остальные 9 были аберрантными. Одно растение содержало телоцентрическую хромосому 5RS, в другом растении была выявлена изохромосома по короткому плечу, в остальных отмечена 5R-хромосома с делецией дистального участка длинного плеча – 5RS.5RL-del. (рис.).

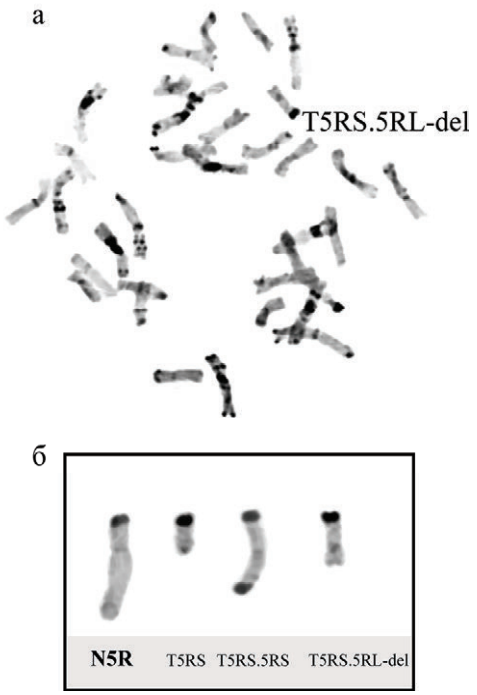

Рис. Варианты хромосомных аберраций в потомстве ди-моносомика 5D-5R: а – кариотип растения с аберрацией 5RS.5RL-del; б – нормальная 5R хромосома и типы ее структурных преобразований.

Известно, что появление телоцентрических и изохромосом является следствием поперечного деления (misdivision) центромер унивалентных хромосом во время первого или второго мейотического деления. Механизм образования таких аберрантных хромосом у мягкой пшеницы был детально описан (Vega, Feldman, 1998). В первом мейотическом делении наряду с продольным делением всей центромеры может происходить деление одной из сестринских центромер, что приводит к образованию двух телохромосом и одной сестринской хромосомы. В случае если поперечное деление затрагивает центромеры обеих сестринских хроматид, то образуются две изохромосомы – одна по короткому плечу, а другая – по длинному. Поперечное деление центромер может иметь место и во втором мейотическом делении, если сайты прикрепления микротрубочек веретена деления на хроматиде будут ориентированы к противоположным полюсам. Тогда в ранней телофазе при укорачивании нитей веретена деления центромера сначала удлиняется, а затем рвется в поперечном направлении. В итоге образуются две телоцентрические хромосомы.

Что касается делеций, то они, как правило, образуются в результате действия мутагенов или открытых недавно гаметоцидных генов (Endo, 1990). Однако ни один из этих факторов на исследованный нами материал не воздействовал. В связи с этим возникает закономерный вопрос: чем обусловлено появление данного типа аберраций? Единственное возможное, на наш взгляд, объяснение этого феномена связано с неоцентрической активностью хромосом.

Недавно рядом авторов (Schlegel, 1987; Manzanero *et al.*, 2000, 2002) было установлено, что область проксимальной перетяжки, локализованной в длинном плече 5R-хромосомы, способна проявлять неоцентрическую активность в метафазе I мейоза гаплоидов ржи и пшенично-ржаных дополненных линий. С помощью различных молекулярных и биохимических методов показано, что в области неоцентромеры формируется структура, аналогичная кинетохору, к ней прикрепляются нити веретена деления, при этом наблюдается коориентация неоцентромеры с истинной центромерой.

В выявленной нами аберрантной 5R-хромосоме разрыв длинного плеча произошел как раз в месте расположения вышеупомянутой перетяжки. Исходя из этого, в нашем случае можно предположить такую ситуацию: центромера и неоцентромера унивалентной 5R-хромосомы оказываются связанными нитями веретена деления с противоположными полюсами; сокращение микротрубочек веретена в A-I приводит к растяжению хромосомы и последующему разрыву в области неоцентромеры. Образовавшийся терминальный фрагмент элиминируется, а дилетированная хромосома сохраняет функциональную активность и передается через гаметы, что мы и наблюдали в изученном материале.

Результаты хромосомного анализа потомства 5R-5D-ди-моносомика, выращенного в условиях теплицы, отличались от результатов анализа полевого материала. Хотя суммарное количество генотипических классов осталось прежним, но не был выявлен 6-й класс, в то время как появился 9-й. Наблюдалось также значительное перераспределение частоты встречаемости классов: численное преимущество получили 4-й и 5-й классы (по 27,8 %). С частотой 11,1 % встречались растения 1-го и 7-го классов. Частота встречаемости растений, принадлежащих остальным четырем генотипическим классам, едва превышала 5 %. Отмеченные изменения явились следствием преобладания в материале растений с 5D-хромосомой (18 против 11 растений с 5R). В дисомном состоянии хромосома 5D была отмечена у 4 растений, в моносомном – у 10. Хромосома 5R присутствовала в дисомном состоянии у 2 растений, в моносомном – у 7. Подавляющее большинство 5R-хромосом имели нормальную структуру, и лишь у двух растений выявлены аберрантные хромосомы – в одном случае это был телоцентрик по короткому плечу, в другом – терминальная делеция длинного плеча. Полученное распределение генотипов по классам в большей степени соответствует картине, наблюдаемой при эквационном делении унивалентных хромосом ржи.

Проведенные исследования свидетельствуют о высокой степени зависимости процесса трансмиссии через гаметы унивалентных хро-

мосом ржи и пшеницы от условий внешней среды. Особенно сильно эта зависимость сказывается на поведении чужеродных хромосом ржи. Воздействие различных стрессовых факторов в полевых условиях не только приводит к нарушению функционирования истинной центромеры 5R-хромосомы, вследствие чего она претерпевает различные структурные изменения и передается в виде изохромосом и телоцентриков, но и может вызывать активацию неоцентромеры.

Работа частично выполнена на средства, предоставленные Белорусским фондом фундаментальных исследований (проект Б02Р-090) и Российским фондом фундаментальных исследований (проект Бел 2002а 02-04-81025).

Литература

Бадаев Н.С., Бадаева Е.Д., Большева Н.Л., Зеленин А.В. Идентификация хромосом А- и D-геномов пшеницы с использованием замещений и перестроек между гомеологами у пшениц и тритикале // Докл. АН СССР. 1983. Т. 273, № 4. С. 994–996.

Дубовец Н.И., Дымкова Г.В., Соловей Л.А. и др. Реконструкция кариотипа гексаплоидных тритикале путем межгеномных замещений хромосом // Генетика. 1995. Т. 31, № 10. С. 1394–1399.

Силкова О.Г., Щапова А.И., Потапова Т.А., Кравцова Л.А. Причины, обусловливающие различия в частоте передачи через гаметы двух гомеологичных унивалентных хромосом пшенично-ржаного ди-моносомика // Генетика. 1999. Т. 35, № 6. С. 784–790.

Щапова А.И., Кравцова Л.А., Потапова Т.А. Закономерности преобразований геномной структуры пшенично-ржаных полигаплоидов ABDR // Генетика. 1987. Т. 23, № 2. С. 295–302.

Щапова А.И., Кравцова Л.А. Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов. Новосибирск: Наука, 1990. 164 с.

Щапова А.И., Силкова О.Г., Кравцова Л.А. Роль хромосом пятой гомеологичной группы пшеницы и ржи в регуляции эквационного деления унивалентов // Генетика. 1995. Т. 31, № 3. С. 390–395.

Gupta P.K. Homoeologous relationship between wheat and rye chromosomes. Present status // Genetica. 1971. V. 42, № 2. P. 199–213.

Manzanero S., Puertas M.J., Jimenez G., Vega J.M. Neocentric activity of rye 5RL chromosome in wheat // Chromosome Res. 2000. V. 8, № 6. P. 543–554.

Manzanero S., Vega J.M., Houben A., Puerta M.J. Characterization of the constriction with neocentric activity of 5RL chromosome in wheat // Chromosoma. 2002. V. 8, № 4. P. 228–235.

May C.E., Appels R. The inheritance of rye chromosomes in early generations of triticale × wheat hybrids // Canad. J. Genet. Cytol. 1982. V. 24, № 3. P. 285–291.

Merker A. The rye genome in wheat breeding // Canad. J. Genet. Cytol. 1984. V. 100. P. 183–191.

Schlegel R. Neocentric activity in chromosome 5R of rye revealed by haploidy // Hereditas. 1987. V. 107, № 1. P. 1–6.

Vega J.M., Feldman M. Effect of the pairing gene Ph1 on centromere misdivision in common wheat // Genetics. 1998. V. 148, № 4. P. 1285–1294.

Transmission of univalent chromosome 5R *via* gametes of di-monosomic 5D-5R

N.I. Dubovets [1], O.G. Silkova[2], A.I. Shchapova[2], L.A. Solovey[1], T.I. Shtyk[1]

[1] Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by
[2] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia,
e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

The transmission frequency of univalent chromosomes 5D and 5R via gametes of di-monosomic 5D-5R was studied. The relationship was revealed between the transmission pattern of alien chromosome 5R and enviromental conditions. The effect of stress factors was shown to result in different structural changes in the chromosome 5R caused by functioning peculiarities of its centromere region. It was assumed that appearance of the chromosome 5R with deletion of a terminal site in a long arm in the progeny of di-monosomic resulted from activation of the neocentromere region.

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЯДЕРНОЙ И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ У РАСТЕНИЙ

А.Н. Палилова, П.А. Орлов, Е.А. Волуевич

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь,
e-mail: A.Palilova@igc.bas-net.by

В статье обобщаются результаты исследований, выполненных в Институте генетики и цитологии НАНБ по проблеме взаимодействия ядерной и цитоплазматических генетических систем в контролировании процессов развития растений, формирования их устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды, грибным и вирусным патогенам. Отмечены наиболее важные и приоритетные разработки, которые легли в основу цикла работ, удостоенного Государственной премии Республики Беларусь в 2003 г.

Введение

Современная генетика – область биологической науки, в которой за последние 50 лет произошли крупнейшие открытия. Так, расшифрован генетический код и выяснены основные законы его функционирования, осуществлен синтез искусственных молекул наследственности ДНК и РНК, построены генетические карты бактерий, вирусов, многих растений и некоторых животных, разработаны методы выделения отдельных генов и способы передачи их другим организмам. Ученые вплотную приблизились к полной расшифровке генетической информации клетки растений, возможности управлять наследственностью и корректировать ее.

Однако до полного решения этих проблем еще далеко. Путь от гена до его проявления в виде отдельного признака сложен и почти не исследован. Предстоит понять и расшифровать механизмы регуляции экспрессии многих генов, пути их взаимодействия и последовательного «включения» в ходе развития и формирования признаков живых организмов. Усложняет решение этой проблемы многокомпонентность генотипа эукариотов, проявляющаяся в существовании нескольких генетических систем в клетках. Так, у растений ДНК содержится не только в ядре, в котором сосредоточена основная генетическая информация, но и в других органеллах клетки – в митохондриях и хлоропластах. В этих органеллах имеются все компоненты, составляющие генетическую систему: ДНК, специфические РНК-полимеразы, информационные и транспортные РНК, рибосомы и др. Эти генетические системы взаимодействуют друг с другом и с ядерным геномом в процессах развития и формирования признаков и свойств растений.

Взаимодействие хлоропластных и ядерных генов отчетливо проявляется в важнейшем для растения процессе фотосинтеза. Многие белки, участвующие в этом процессе, в том числе один из важнейших ферментных белков рибулезодифосфаткарбоксилаза, контролируются ядерным и хлоропластным геномами. Можно привести много примеров двойного кодирования ферментных систем в клетках растений и животных, подтверждающих факты взаимодействия ядерных и органелльных геномов. Это общебиологическое явление характерно для эукариотических организмов, имеющих истинное ядро.

Существенный вклад в разработку проблемы взаимодействия ядерных и цитоплазматических генов в процессе формирования свойств и признаков растений внесли ученые Института генетики и цитологии НАН Беларуси, где по этому направлению исследований была создана научная школа во главе с доктором биологических наук, профес-

сором А.Н. Палиловой. Результаты, полученные за последние годы в трех лабораториях Института под руководством д.б.н. А.Н. Палиловой, д.б.н. Е.А. Волуевич и д.б.н. П.А. Орлова, вошли в цикл работ «Разработка фундаментальных и прикладных проблем взаимодействия ядерной и цитоплазматических генетических систем у растений», удостоенный Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники в 2003 г. Этот цикл работ отражает результаты исследований по основным направлениям фундаментальных и прикладных проблем взаимодействия генетических систем клеток сельскохозяйственных растений, выполненных под руководством этих исследователей.

Исследование взаимодействия ядерных генов и плазмогенов при ЦМС у сельскохозяйственных растений

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) у растений, открытая в пятидесятые годы 20-го века, нашла широкое применение в селекционной практике как генетический способ кастрации материнских растений гибридов кукурузы, пшеницы, риса, сахарной свеклы и др. Этот признак наследуется по материнской линии, что свидетельствует о его нехромосомной природе. Однако восстановление фертильности пыльцы у гибридов этого типа осуществляется ядерными генами-восстановителями фертильности. В этой связи одним из основных направлений, выбранных нами для изучения фундаментальных и прикладных проблем взаимодействия ядерной и цитоплазматических систем у растений, являлись генетическое, цитологическое, цитохимическое и биохимическое исследования взаимодействия ядерных генов и плазмогенов при ЦМС у растений (Турбин, Палилова, 1975).

Результаты исследований показали, что признак ЦМС является наиболее наглядным примером взаимодействия генов органелл с ядерным геномом клеток растений. Нарушение взаимодействия генетических систем клетки, вызванное мутациями в одной из них, приводит к стерильности пыльцы, ее нежизнеспособности. В случае, когда мутация происходит в митохондриальном геноме, также возникает признак стерильности, но наследуется строго по материнской линии (ЦМС). На основе этих результатов впервые в мире была предложена теоретическая модель механизмов взаимодействия ядерных генов и плазмогенов при формировании ЦМС и восстановлении фертильности пыльцы (Палилова, 1986). Эта модель в дальнейших исследованиях была подтверждена на молекулярном уровне и получила широкое признание генетиков. Суть этой модели сводится к тому, что ЦМС является результатом мутации в митохондриальной ДНК, затрагивающей ген-регулятор, контролирующий синтез белка-репрессора, регулирующего этапы синтеза различных митохондриальных белков, которые обеспечивают нормальные функции митохондрий. Ядерный ген-восстановитель фертильности выполняет роль эффектора, контролирующего синтез белка-индуктора, связывающего репрессор и включающего последовательный синтез митохондриальных белков. В результате мутации в митохондриях нарушается нормальное взаимодействие ядерных генов и плазмогенов, что приводит к избыточному синтезу белка-репрессора и к отклонениям в функционировании митохондрий и стерилизации микроспор. Наличие в геноме растений доминантных аллелей ядерных генов восстановления фертильности компенсирует достаточное количество белка-индуктора и обеспечивает нормальный ход клеточного метаболизма в микроспорах пыльников.

Использование цитохимических и биохимических методов исследований показало также, что у ЦМС линий кукурузы, пшеницы и других культур отмечаются существенные изменения многих биохимических реакций: количественного содержания биологически активных и запасных веществ, аминокислот, активности ключевых ферментов клеточного метаболизма и других функций, что подтверждает влияние митохондриальной мутации на экспрессию многих генов.

Важное значение имеют результаты, полученные по этому направлению исследований, свидетельствующие о существовании гетерогенности митохондрий у растений с ЦМС и гетероплазматического состояния цитоплазмы по составу митохондрий в клетках растений, которое закреплено и переда-

ется по материнской линии в поколениях (Палилова, 1981).

Фундаментальные разработки проблемы взаимодействия ядерных и цитоплазматических генов при ЦМС у растений легли в основу ряда практических разработок. Так, были созданы линии с ЦМС у кукурузы, пшеницы, сахарной свеклы и линии – эффективные восстановители фертильности пыльцы, которые переданы в мировую коллекцию Всесоюзного института растениеводства (Санкт-Петербург), а также в другие селекционные учреждения. На основе лучших из линий кукурузы по комбинационной способности создан гибрид кукурузы Минский 1, который был районирован в Брестской и Гомельской областях Беларуси. Создана также гибридная популяция пшеницы на основе ЦМС и восстановителей фертильности, отличающаяся высоким гетерозисным эффектом.

Изучение взаимодействия генома и плазмона в формировании устойчивости растений к грибным и вирусным патогенам

Это направление исследований, вошедшее в цикл работ, удостоенных присуждения Государственной премии Республики Беларусь, является оригинальным, поскольку дает представление о формировании признака устойчивости к болезням на основе изучения взаимодействий генетических систем организмов различного биологического уровня развития.

На примере возбудителей таких распространенных и вредоносных грибных заболеваний пшеницы, как бурая ржавчина, мучнистая роса, септориоз, пыльная и твердая головня, выявлены эффекты генетических систем цитоплазмы растения-хозяина на полигенную устойчивость (Волуевич, Булойчик, 1999). Показано, что экспрессия малых генов устойчивости к этим патогенам обусловлена ядерным генетическим фоном и типом цитоплазмы. Обнаружено дифференцированное влияние цитоплазмы на экспрессию полигенов устойчивости на разных стадиях онтогенеза растения (Булойчик, Волуевич, 1998). Выявлена зависимость экспрессии преодоленных главных генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине (*Lr10* и *Lr23*) от особенностей ядерного и цитоплазматического фона растения–хозяина и патогенных свойств изолятов гриба с использованием созданных нами новых серий аллоплазматических линий (Voluevich, Buloichik, 2001).

Установлено участие генетических цитоплазматических систем растения–хозяина в специфичности полигенной устойчивости пшеницы к грибным патогенам (Волуевич, Булойчик, 1995). Выявлено действие плазмона растения на адаптацию возбудителя болезни. Показано влияние цитоплазмы на толерантность (Волуевич, Лупей, 1999).

На основании этих теоретических разработок была сформулирована новая генетическая концепция устойчивости растений к грибным патогенам, учитывающая вклад в формирование этого признака каждой из генетических систем растения–хозяина и возбудителя болезни. Она предполагает взаимодействие всех трех генетических систем клеток растений (ядерной, хлоропластной и митохондриальной) в формировании реакций устойчивости–восприимчивости к патогенам.

Оригинальные результаты получены в ходе разработки механизмов устойчивости растений к вирусным болезням картофеля. Здесь также выявлена важная роль взаимодействия ядерных и органельных генов растения–хозяина с генами вирулентности и авирулентности вирусного патогена. На большом экспериментальном материале, полученном с использованием диких видов картофеля – доноров устойчивости к вирусам, сортов разного уровня устойчивости к этим патогенам и аллоплазматических линий картофеля, имеющих цитоплазму дикого вида *Solanum demissum*, показано изменение ультраструктуры хлоропластов и митохондрий при заражении X-, Y-, M-, S-вирусами (Павлючук и др., 1998). Методом эндонуклеазной рестрикции хлоропластных и митохондриальных ДНК выявлены фрагменты рестрикции, которые могут быть использованы в качестве маркеров генов устойчивости к вирусам. Результаты этих исследований свидетельствуют о совместных действиях геномов органелл и ядерных генов в защитных механизмах против вирусной инфекции (Палилова и др., 2002а).

Большой и оригинальный экспериментальный материал получен при использова-

нии специально созданной модельной системы родственных клонов картофеля, контрастных по устойчивости к X- и L-вирусам. Эта модельная система клонов позволила выявить полиморфизм спектров разных фракций легкорастворимых белков между контрастными по резистентности клонами с общим геномом, что, в свою очередь, позволяет идентифицировать белки, участвующие в реакциях устойчивости или восприимчивости к этим вирусам (Палилова и др., 2002б). Дальнейшее исследование этих белков методами молекулярной генетики даст возможность идентифицировать белки-маркеры генов устойчивости к данным вирусам и рекомендовать их для использования в селекционном процессе для оценки устойчивости к вирусной инфекции.

Методом полимеразной цепной реакции ДНК устойчивых и восприимчивых к вирусам клонов картофеля, имеющих общий геном, с произвольными праймерами обнаружен полиморфизм продуктов амплификации ДНК этих клонов, свидетельствующий о мутагенной природе изменения этого признака (Палилова и др., 2002в).

Изучение созданной системы клонов картофеля позволило также получить принципиально новые данные об особенностях экспрессии генов устойчивости к вирусной инфекции в ходе онтогенетического развития у эу- и аллоплазматических сортов картофеля, различающихся по типу реакции на заражение.

Взаимодействие ядерных и цитоплазматических генов в контролировании морфогенетических процессов, индуцированных в культуре клеток и тканей растений *in vitro*

На большом экспериментальном материале, включающем реципрокные гибриды пшеницы, аллоплазматические линии с ядерными геномами мягких пшениц и цитоплазмой диких видов, реципрокные межвидовые и межсортовые гибриды пшеницы и др., показано, что основные этапы развития в культуре тканей *in vitro* – дедифференцировка, рост клеточной массы, индукция регенерации – осуществляются при участии цитоплазматических генов (Орлов, Палилова, 1989). Впервые показано, что замещение цитоплазмы может существенно изменять параметры, характеризующие способность растений к индукции каллусных культур, их пролиферации и регенерации целых растений при культивировании соматических и генеративных тканей (Орлов, 2001).

Выявлены цитоплазмы, положительно влияющие на индукцию каллусов и регенерацию растений. Показана зависимость влияния цитоплазмы от типа ткани эксплантa. На основе методов дифференциальных индексов и кластерного анализа исследованные цитоплазмы классифицированы на пять групп, которые могут соответствовать их филогенетическому родству.

Получены новые данные об экспрессии ядерных и цитоплазматических генов, связанных со способностью растений к радикальной перестройке онтогенетических процессов при помещении их тканей *in vitro*. В частности, показано взаимодействие ядерной, хлоропластной и митохондриальной генетических систем в механизмах фитогормональной регуляции морфогенетических процессов в культуре пыльников пшеницы (Orlov, Pyko, 1999).

На основе всестороннего анализа характера морфогенеза в культуре клеток и тканей у аллоплазматических и эуплазматических линий пшеницы сформирована концепция генетики морфогенеза у растений на примере аллоплазматических линий пшеницы, включающая как неотъемлемую часть взаимодействие генома и плазмона в контролировании отдельных его этапов. Роль каждого из компонентов взаимодействия неоднозначна в контролировании отдельных этапов морфогенеза (Орлов, 1995).

Предполагается, что ведущую роль в формировании морфоструктур *in vivo* играют ядерные гены, которые используют цитоплазму как субстрат. Ряд этапов морфогенеза, особенно в формировании генеративных тканей, контролируются взаимодействием ядерных и цитоплазматических генов, где цитоплазма выступает как равноценный компонент взаимодействующих систем. Формирование основных свойств и признаков растений, в том числе и генеративной сферы растительной пыльцы, протекает при наиболее благоприятном сочетании генома и плазмона (у эуплазматических форм). В слу-

чае цитоплазматической мутации или замещения собственной цитоплазмы на чужеродную возникает дисбаланс между взаимодействующими компонентами геномов, что приводит к нарушению морфогенеза генеративных и соматических тканей пыльника. Основные этапы морфогенеза в культуре тканей (дифференцировка, пролиферация каллуса, индукция эмбриогенеза, регенерация) также осуществляются под совместным контролем ядерных генов и плазмогенов, о чем свидетельствует усиление или ингибирование морфогенетических процессов при замещении собственной цитоплазмы вида растений на чужеродную. В результате этих работ были созданы новые формы растений пшеницы, являющиеся источниками высокого эмбриогенного потенциала в культуре тканей. Использование таких форм растений позволит значительно повысить эффективность проведения селекции и генетической трансформации растений (введение в геном отдельных полезных генов). Наряду со значительной их важностью для фундаментальной науки они имеют также практическое значение для селекции растений на продуктивность, устойчивость к патогенам, неблагоприятным факторам среды и на проявление гетерозиса.

Селекционные формы растений, созданные в ходе выполнения исследований по циклу работ, и методы внедрены в производство и практику более чем в 15 отраслевых научно-исследовательских учреждениях и опытных станциях. Переданы в мировую коллекцию генетических ресурсов (г. Санкт-Петербург), селекционные учреждения Беларуси и стран СНГ более 200 образцов аллоплазматических, изогенных и самоопыленных линий пшеницы, кукурузы, сои, являющихся донорами хозяйственно ценных признаков.

Изучение чужеродных цитоплазматических генов-источников мужской стерильности у пшеницы позволило разработать эффективные способы их использования для производства гибридных семян этой культуры в промышленных масштабах. Получено авторское свидетельство на «Способ получения гибридных семян пшеницы».

Разработан метод оценки устойчивости картофеля к вирусам по реакции мембранных структур клетки и метод оценки вирусоустойчивости картофеля «Способ оздоровления селекционных сортов картофеля от заражения Х-вирусом».

На основе теоретических исследований роли плазмона в полигенной резистентности разработан новый метод селекции на болезнеустойчивость «Способ повышения частичной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине». Созданы два высокоурожайных устойчивых к болезням сорта мягкой яровой пшеницы Рассвет и Тома совместно с селекционерами Института земледелия и селекции НАН Беларуси. Сорт Рассвет обладает высокими технологическими качествами и рекомендован для возделывания на всей территории Республики Беларусь. Экологически пластичный сорт Тома проходит госсортоиспытание в Республике Беларусь.

В выполнении исследований по основным направлениям цикла работ существенную финансовую поддержку оказал Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований. За период с 1996 по 2002 гг. финансировались 7 грантов БРФФИ, 4 гранта получены на приобретение компьютеров, 2 гранта на издание монографий. Авторы цикла работ выражают глубокую благодарность Фонду фундаментальных исследований за оказанную помощь.

Литература

Булойчик А.А., Волуевич Е.А. Модифицирующее действие чужеродных цитоплазм на устойчивость пшеницы к природной популяции мучнистой росы в онтогенезе растения-хозяина // Цитология и генетика. 1998. Т. 32, № 3. С. 51–58.

Волуевич Е.А., Булойчик А.А. Ядерно-цитоплазматические взаимодействия в устойчивости пшеницы к грибным патогенам. Сообщение 8. Специфичность внутривидовых цитоплазматических эффектов в реакциях совместимости *Triticum aestivum* с бурой ржавчиной // Генетика. 1995. Т. 31, № 3. С. 368–373.

Волуевич Е.А., Булойчик А.А. Влияние чужеродного плазмона растения-хозяина на устойчивость мягкой пшеницы к возбудителю твердой головни // Цитология и генетика. 1999. Т. 33, № 4. С. 43–48.

Волуевич Е.А., Лупей А.Ю. Модифицирующее действие цитоплазматических генетических систем на толерантность яровой пшеницы к септориозу // Докл. НАН Беларуси. 1999.

Т. 43, № 4. С. 79–82.
Орлов П.А. Взаимодействие генома и плазмона в дифференцировке тканей и развитии растений (на примере пшеницы): Автореф. дис. ... д.б.н. Минск: ИГиЦ АНБ, 1995. 34 с.
Орлов П.А. Взаимодействие ядерных и цитоплазматических генов в детерминации развития растений. Минск: Юнипак, 2001. 172 с.
Орлов П.А., Палилова А.Н. Модифицирующее влияние чужеродных цитоплазм на индукцию и рост каллуса аллоплазматических линий пшеницы // Генетика. 1989. Т. 25, № 12. С. 2168–2175.
Павлючук Н.В., Ахраменко А.Д., Палилова А.Н. Эффективность клонового отбора на резистентность к Х-вирусу в пределах сортов популяций картофеля // Докл. НАН Беларуси. 1998. Т. 6. С. 77–80.
Палилова А.Н. Нехромосомная наследственность. Минск: Наука и техника, 1981. 196 с.
Палилова А.Н. Генетические системы у растений и их взаимодействие. Минск: Наука и техника, 1986. 160 с.
Палилова А.Н., Домаш В.И., Забрейко С.А. и др. Изменение компонентного состава белков ингибиторов трипсина в клубнях картофеля, индуцируемое отбором на устойчивость к вирусам // Докл. НАН Беларуси. 2002а. Т. 46, № 5. С. 106–109.
Палилова А.Н., Павлючук Н.В., Ахраменко А.Д. и др. Роль дикого типа в повышении устойчивости димиссоидов к фитопатогенным вирусам // Материалы VIII съезда генетиков и селекционеров Республики Беларусь. Минск, 2002б. С. 129–130.
Палилова А.Н., Урбанович О.Ю., Долматович Т.В. и др. Дифференциация устойчивых и восприимчивых клонов картофеля к Х- и L-вирусам методом полимеразной цепной реакции // Докл. НАН Беларуси. 2002в. Т. 46, № 1. С. 87–89.
Турбин Н.В., Палилова А.Н. Генетические основы цитоплазматической мужской стерильности у растений. Минск: Наука и техника, 1975. 184 с.
Orlov P.A., Pyko V.I. Green and albino plant regeneration in anther culture of alloplasmic wheat lines // Proc. Intern. Congr. «Anther and pollen: from biology to biotechnology». Sprigler-Verlag, 1999. P. 229–236.
Voluevich E.A., Buloichik A.A. Interaction of nuclear and cytoplasmic genetic systems of host–plant in common wheat resistance to leaf rust // Genetic collections, isogenic and alloplasmic lines. Novosibirsk, 2001. P. 111–114.

Basic and applied problems of nuclear-cytoplasmic genetic systems interactions in plants

A.N. Palilova, P.A. Orlov, E.A. Voluevich

Institute Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: A.Palilova@igc.bas-net.by

Summary

The results of the investigations carried out at the Institute of Genetics and Cytology of NASB under professor A.N. Palilova supervision on the problem of nuclear and cytoplasmic genetic system interaction in controlling plant development, formation of their resistance to unfavorable environmental factors, fungal and viral pathogens, are summarized in the paper. The most important and priority elaborations that have been taken as the basis of the work cycle awarded with a State Price of the Republic of Belarus in 2003 were distinguished.

ИЗМЕНЕНИЕ ДНК ХЛОРОПЛАСТОВ И МИТОХОНДРИЙ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ У ЗЛАКОВ

М.Г. Синявская[1], Е.А. Аксенова[1], Л.А. Першина[2], С.Ф. Коваль[2], Н.Г. Даниленко[1], О.Г. Давыденко[1]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: soyanort@home.by; [2] Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: pershina@bionet.nsc.ru; kovalsf@bionet.nsc.ru

С целью изучения наследования органельных ДНК у отдаленных гибридов злаков проведен ПЦР анализ: *trnS1*, *3′rbcL*-района хлоропластной (хп); *coxI*, *coxIIE*, *5′cob*, *nad3-orf156*, *18s*/*5s* митохондриальной (мт) ДНК. Показано, что у форм, считавшихся «аллоплазматическими», в геноме митохондрий детектируются локусы обоих родительских типов, а не только материнские. При беккроссировании и последующем самоопылении в ряду поколений у отдаленных гибридов возможно замещение материнских органельных ДНК на отцовские, а также детектируются измененные органельные ДНК-локусы. Обсуждается роль ядра в этом процессе.

Введение

Отдаленная гибридизация – важнейший фактор формообразования в природе. На практике она также широко используется для создания новых форм растений с уникальными свойствами. В результате гибридизации неродственных видов в одном организме объединяются разные не только ядерные, но и цитоплазматические геномы, что приводит к межгеномным конфликтам.

Достижение высокой продуктивности межродовых гибридов, снятие межгеномных конфликтов возможны при сбалансированной работе объединенных в одной клетке генетических систем. Это может быть результатом либо дополнительного введения хромосомных фрагментов в ядерный геном одного из родителей (Tsujimoto *et al*., 1987; Anderson, Maan, 1995; Синявская, 1999), либо изменений, происходящих с ДНК органелл (Davydenko *et al*., 1992; Синявская, 1999).

В последнее время появляются работы, свидетельствующие о том, что процессы реорганизаций геномов ядра и цитоплазмы, происходящие при отдаленной гибридизации, у злаков, намного сложнее, чем представлялось до сих пор (Shaked *et al*., 2001).

Типичное для злаков материнское однородительское наследование органелл в случае отдаленной гибридизации может быть изменено на двуродительское. Присутствие в зиготе двух типов органельных ДНК может создавать предпосылку как для селекции в пользу только одного из двух типов, так и для рекомбинационных процессов.

Первые факты, свидетельствующие о возможности двуродительского наследования митохондриальной ДНК у злаков, были получены на межродовых гибридах ячмень-рожь (Soliman *et al*., 1987). В работе Laser *et al*. (1997) было показано присутствие отцовских и измененных копий *orf25* гена мтДНК у тритикале. Подобные результаты были обнаружены нами у пшеницы на цитоплазме ржи, где ПЦР анализ 5′-фланкирующего района 18S/5S митохондрий показал существование у данной формы фрагментов двух типов – ржи и пшеницы (Sinyavskaja *et al*., 2001). У аллоплазматического гибрида *Aegilops–Triticum* отцовские пшеничные копии митохондриального полицистронного транскрипционного блока *nad3-orf156* (*atp8*) выявлялись в различных субстехиометрических количествах в зависимости от комбинаций ядерных и цитоплазматических геномов (Tsukamoto *et al*., 2000; Kitagawa *et al*., 2002). Несмотря на присутствие копий мтДНК двух типов (и, следовательно, гетероплазматическое состояние), экспрессия и РНК-

эдитинг у данных форм шли преимущественно по материнскому типу, что, вероятно, определялось генетическими факторами ядра (Kitagawa *et al*., 2003).

В лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси совместно с учеными из Института цитологии и генетики СО РАН в течение ряда лет велись работы по изучению ядерно-цитоплазматических взаимодействий у отдаленных гибридов злаков, и в частности по проблемам наследования и реорганизации геномов органелл при отдаленной гибридизации.

Материалы и методы

Исследовались:

- линия аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – (*Secale cereale* L.) – *T. aestivum* L. BC_6-поколения (образцы семян линии L62 предоставлены О.Г. Семеновым), ее гибриды F_1–F_3-поколения с сортами мягкой пшеницы Ледовка и Ленинградка;
- линии аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – (*S. cereale* L.) – *T. aestivum* L. BC_9-поколения (ЦАНК-1А, ЦАНК-1В, ЦАНК-1С, ЦАНК-1Д), полученные в результате беккроссирования гибридов *S. cereale* L. × *T. aestivum* мягкой пшеницей (Коваль, Федотова, 1995);
- гибриды F_1 (*S. cereale* L. × (× *Triticale* Thch.)) и линии секалотритикум, выделенные от самоопыленных потомков последовательного беккроссирования данного гибрида тритикале – F_7–F_8BC_2 (Гордей и др., 1996);
- ячменно-пшеничные гибриды F_1 комбинации (*Hordeum vulgare* L. × *T. aestivum* L.) и их беккроссные потомки BC_1-поколения, характеризующиеся мужской стерильностью и полученные при беккроссировании F_1 растений мягкой пшеницей; полностью стерильные растения BC_4–BC_6-поколения; аллоплазматические рекомбинантные линии L-16(30), L-79(1) (самофертильные) и L-55(2) (нестабильная по проявлению самофертильности), выделенные среди беккроссных потомков гибридов;
- самофертильная аллоплазматическая рекомбинантная линия L-g41, полученная на основе беккроссных потомков ячменно-пшеничного гибрида [*H. geniculatum* All. (= *H. marinum* subsp. *gussoneanum*) × *T. aestivum* L.] (Pershina *et al*., 1998; Першина и др., 1999).

Изучение тотальной ДНК вышеперечисленных форм проводилось с помощью ПЦР специфических маркеров к хлоропластной ДНК – *trnS1, 3'rbcL*-району; митохондриальной ДНК – *coxI, coxIIE, 5'cob, nad3-orf15, 18s/5s* районам (табл. 1).

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 250 мкМ каждого из dNTP; 0,2–0,4 мкМ каждого праймера, 1,5–2,5 mM $MgCl_2$; 1U Taq ДНК-полимеразы (*MBI, Fermentas*), 1 × PCR буфер (*MBI, Fermentas*), 100–200 нг тотальной ДНК.

Условия амплификации были следующие: 94° – 5'; 35 циклов: 94° – 1' (для *18S/5S* – 92° 20"); Tm (в зависимости от праймера, см. таблицу 1) – 0,5–1'; 72° – 1'; финальная элонгация 72° – 10'.

Для детекции принадлежности амплифицированных локусов к какому-либо (или обоим) из родительских типов проводилась эндонуклеазная рестрикция ПЦР продуктов по:

- *18s/5s* и *coxIIE* районам мтДНК – *Sal I* и *Taq I* эндонуклеазы рестрикции соответственно (ржано-пшеничные гибриды);
- *coxI* мтДНК району – *MspI* эндонуклеаза (ячменно-пшеничные гибриды).
- ПЦР и ПЦР-ПДРФ анализ проводился в:
- 2 % агарозном геле – *18s/5s, nad3-orf156, coxIIE* районы;
- 0,8 % агарозном геле – *3'rbcL* область;
- 6–8 % полиакриламидном неденатурирующем и денатурирующем гелях – *coxI* и *trnS1* локусы соответственно (*trnS1* район анализировался в секвенаторе ALF Express, праймер был мечен флуорохромом Cy5).

Результаты

Данные, полученные при изучении аллоплазматических линий пшеницы, имеющих цитоплазму ржи – L62, ЦАНК-1А, ЦАНК-1В, ЦАНК-1С, ЦАНК-1Д, гибридов одной из них с сортами мягкой пшеницы, гибридов рожь–тритикале, представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, аллоплазматические пшеницы на цитоплазме ржи L62 и ЦАНК-линии подобны друг другу по наблю-

Таблица 1

Праймеры, районы геномов органелл, подобранные для анализа гибридов ячменя, пшеницы и ржи

Праймер	Последовательность	°С
хлоропластная ДНК		
trnS1 (Provan *et al*., 1999)	5′-CTTTAGCGGGCATTTCCATA-3′ 5′-ATGGTGGATTTGATAAGAACCC-3′	60
3′rbcL (Ohsako *et al*., 1996)	5′-TTCGAGTTCGAGCCGGTAGATA-3′ 5′- TGACAAGTTCCTCTTTACCC-3′	58
митохондриальная ДНК		
coxI (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′-CTAACCACAAGGATATTGGGAC -3′ 5′-AGTTCTCCAAAAGTATGAAAGGC -3′	58
coxIIE (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′-GGGTATTAGTAGATCCAGCCAT -3′ 5′-TCATCGGAACTGTTATAGTCCG -3′	58
5′cob (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′- CAATAAGAGTTTCCGAGAGTT-3′ 5′- GGGAGTAAATGATGGAGACTA-3′	58
nad3-orf156(region I)(Hattori *et al*., 2002)	5′- ATGAATGGAAAAGGGGTGCTT-3′ 5′-GGAGAAGACATAACCAGAAGA-3′	58
5′ 18s/5s (Coulthart *et al*., 1993)	5′-TTCTCGCGTTCCCTTAATTC-3′ 5′-CGTTCGCCACTTTGTTCTCA-3′	45

Таблица 2

Хлоропластные и митохондриальные ДНК-локусы, детектируемые у гибридов рожь–пшеница, рожь–тритикале

Форма	Исследуемые области			
	митохондриальная ДНК		хлоропластная ДНК	
	5′18s/5s	*coxIIE*	*3′rbcL*	*trnS1*
Аллоплазматическая пшеница на цитоплазме ржи BC_6 – L62;	Р* + П	Р + п	Р	Р
гибриды F_1–F_3 с сортами пшениц	Р + П р + П	Р + п Р + П Р + п Изм?	Р	Р
Аллоплазматические пшеницы на цитоплазме ржи BC_9:				
ЦАНК-1А	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1В	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1С	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1В	Р + П	Р + п	Р	Р
Гибриды (рожь-тритикале)				
F_1	Р + П или Р + п	Изм?	Р	Р
линии секалотритикум (выделенные из $F_{7–8}BC_2$)	П	р + П	П	П

* Р – исследуемые локусы ДНК органелл материнского типа (ржаные) ($+_р$ – следовые количества); П – исследуемые локусы ДНК органелл отцовского типа (пшеницы) ($+_п$ – следовые количества); Изм – молекулы измененного типа.

даемым сочетаниям родительских хлоропластных и митохондриальных ДНК локусов. Выявляется гетероплазмия для ДНК митохондрий, а для хлоропластов обнаружены аллели исключительно материнского типа.

Вышеописанные формы «считаются» аллоплазматическими пшеницами на цитоплазме ржи. Надо отметить, что у них, по данным цитогенетических и ПЦР исследований, присутствуют дополнительные хромосомы/хромосомные фрагменты ржи (Коваль, Федотова, 1995; Sinyavskaja *et al*., 2001).

При исследовании индивидуальных растений гибридов F_1, F_2 аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи с сортами пшениц, а также гибридов рожь–тритикале F_1 нами показано (см. табл. 2), что исследуемые митохондриальные локусы существуют либо в гетероплазматическом состоянии с различными вариантами соотношений копий родительских органельных ДНК в клетке, либо, как обнаружено для *coxIIE*-района, являются измененными.

У всех проанализированных растений линий секалотритикум демонстрируется присутствие исключительно отцовских (пшеничных) типов хлоропластных *trnS1-*, *3′ rbcL*-локусов, и практически такая же картина обнаружена по исследуемым областям митохондриальной ДНК. Отметим также, что по некоторым областям митохондриальных ДНК при электрофоретическом анализе выявлялись едва детектируемые ПЦР фрагменты материнского типа. Отдельные данные по этой модели были опубликованы ранее (Синявская и др., 2004).

Результаты изучения процессов преобразования органельных ДНК у беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов представлены в таблице 3.

Как видно из приведенных в таблице 3 данных, у мужскостерильных растений F_1 и BC_1-поколений обнаружились хпДНК фрагменты только ячменного типа (как у материнской формы гибридов). Тот же результат наблюдался и для полностью стерильных растений более поздних беккроссных поколений (BC_1 и BC_6), и для нестабильной по проявлению фертильности аллоплазматической рекомбинантной линии L-55(2). Однако у самофертильных аллоплазматических рекомбинантных линий L-16(30), L-79(1), L-g41 обнаружены хлоропластные ДНК пшеничного, то есть отцовского типа (Aksyonova *et al*., 2005). Отметим, что изучение ядерного генома жизнеспособных аллоплазматических линий L-16(30), L-79(1), L-g41 с использованием молекулярных маркеров показало полное замещение ячменного генома пшеничным рекомбинантным геномом (Бильданова и др., 2003).

Исследование передачи отдельных мито-

Таблица 3

Хлоропластные и митохондриальные ДНК-локусы, детектируемые у гибридов ячмень–пшеница

Форма	Исследуемая область					
	Митохондриальная ДНК				Хлоропластная ДНК	
	CoxI	*5′cob*	*nad3-orf156*	*18S/5S*	*TrnS1*	*3′rbcL*
Мужскостерильные растения F_1 and BC_1	Я$+_п$	Я	Я$+_п$	Я+П	Я	Я
Полностью стерильные растения BC_4; BC_6	Я$+_п$/ Я+п	Я	п	Я+П / П	Я	Я
Нестабильная по проявлению самофертильности линия L-55(2)	Я+п	Я	п	Я+П/П	Я	Я
Стабильные по проявле-нию самофертильности линии L-16(30); L-79(1); L-g41	П	П	П	П	П	П

Я – копии органельных локусов типа ячменя; П – копии органельных локусов типа пшеницы ($+_п$ – следовые количества).

хондриальных локусов выявило более сложную картину. У гибридов F_1 и BC_1 детектировались как фрагменты обоих родительских типов, так и только материнские. В поздних поколениях беккроссов у растений разных гибридных комбинаций обнаружена связь между фертильностью и типом митохондриальной ДНК. Так, во всех исследованных случаях самофертильные аллоплазматические рекомбинантные линии имели спектр митохондриальной ДНК пшеничного (отцовского!) типа, тогда как у линии L-55(2), характеризующейся нестабильной фертильностью семян, и у стерильных растений BC_4- и BC_6-поколений сохранялись материнские копии митохондриального генома (Aksyonova *et al.*, 2005).

Обсуждение

На основании изучения геномов цитоплазматических органелл становится очевидным, что гибридизация неродственных видов приводит не только к объединению, рекомбинации и перераспределению геномов ядра, но и к композиционному видоизменению органельных геномов.

У аллоплазматических форм пшеницы на цитоплазме ржи, если придерживаться аксиомы материнского наследования, должна была бы быть цитоплазма ржаного типа. Результаты нашей работы свидетельствуют об ином: исследованные мтДНК районы демонстрируют явную гетероплазмию (присутствие копий мтДНК обоих родительских типов) (табл. 2). Если сопоставить эти данные с ранее полученной информацией о хромосомном составе этих форм, то бросается в глаза присутствие в их ядре добавочного фрагмента генома ржи (1R и, возможно, 7R). Из других работ известно, что именно хромосомы 1-й группы сцепления обеспечивают ядерно-цитоплазматическую совместимость (Anderson, Maan, 1995; Asakura *et al.*, 1997; Fedak, 1999). По-видимому, хромосомы 1-й гомеологичной группы содержат также и некие факторы, детерминирующие тип органельных ДНК или способствующие репликации молекул определенного типа. Благодаря присутствию у отдельных растений аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи дополнительных фрагментов ядерного генома ржи возможно существование таких форм в природе и в эксперименте, хотя это состояние не самое благоприятное для растения – такие формы не являются высокопродуктивными.

Однако дальнейшее опыление данных форм (как в случае линии *L62*) сортами мягкой пшеницы приводит к тому, что либо меняется соотношение по отдельным мтДНК локусам у некоторых растений гибридов F_2, F_3 из гетероплазматического с преобладанием копий материнского родителя (ржи) в сторону увеличения числа копий отцовского родителя (пшеницы), либо появляются некие измененные мтДНК локусы (*coxIIE*) (табл. 2). В исследованиях, проведенных ранее еще в «доПЦР-ную эпоху» (Davydenko *et al.*, 1987), обнаружено, что в F_7–F_8 от скрещивания аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – *L62* с сортом мягкой пшеницы Ленинградка выделялись линии «пшеничного», «ржаного типа», у которых, по данным рестрикции хпДНК и мтДНК, выявлялись «измененный» либо «пшеничный» (отцовский), либо «ржаной» (материнский) спектры соответственно. Этот факт также свидетельствует в пользу того, что возникновение отдельных растений с видоизмененными или с отцовским (преобладающим) типами органельных ДНК (что детектируется нами методом ПЦР) – не случайность.

Какова в этом роль добавочных хромосомных фрагментов? У гибридных форм, исследованных в работе (Davydenko *et al.*, 1987), дополнительных хромосомных фрагментов в ядре обнаружено не было. Как мы полагаем, на определенном этапе становления гибридной формы присутствие дополнительного хромосомного фрагмента уже не есть необходимость, так как та часть молекул органельной ДНК, которая несовместима с ядром, была либо утрачена, либо видоизменилась. Наличие хромосомного фрагмента ржи (ржаной хромосомы) не является критическим для растения, и оно может как содержать, так и не содержать его. Коадаптация ядра и цитоплазмы в данном случае достигается за счет видоизменения органельных ДНК.

В системе гибридов рожь–тритикале в F_1 выявлена картина, подобная наблюдаемой у F_1 гибридов аллоплазматической пшеницы с сортами пшениц: гетероплазмия по *5′18S/5S*-району мтДНК и появление измененных мтДНК по *coxIIE*-району. У гибридов $F_2BC_{7–8}$

картина другая, нежели у аллоплазматических линий и их гибридов – преимущественное существование в цитоплазме секалотритикум хлоропластных и митохондриальных копий отцовского типа.

По-видимому, по мере изменения хромосомного баланса гибридных форм последующих поколений *Secalotriticum* в пользу *Triticum aestivum* происходит нарушение материнского наследования органелл, типичного для покрытосеменных. В возникшей сложной гибридной системе допускаются двуродительское наследование и последующая преимущественная сегрегация и дифференциальная амплификация копий органельных ДНК пшеницы, тритикале. Если обратить внимание на изменение набора ядерного генома от гибрида F_1 к BC_2 и сопоставить это с характером передачи родительских органельных геномов в потомство, то очевидно, что определенное соотношение хромосомных факторов родительских геномов в ядре детерминирует и тип передачи органелл.

По результатам исследования ячменно-пшеничных гибридов и их беккроссных потомков прослеживается та же закономерность, что и у вышеописанных гибридов других комбинаций – изменение характера передачи или дифференциальной амплификации определенных районов геномов хлоропластов и митохондрий в зависимости от композиционного состава ядра.

По-видимому, соотношение родительских геномов в ядре или определенных генов детерминирует тип ДНК органелл. Жизнеспособность гибридного растения может достигаться двумя способами: либо сохранением в гибридном ядерном геноме определенных генов, отвечающих за ядерно-цитоплазматическую совместимость, либо путем изменения типа ДНК органелл. Последнее достигается преимущественной репликацией отцовских органелл, гетероплазмией или изменением этих органельных ДНК в результате гибридизации, или мутаций. Наблюдаемая во всех рассмотренных системах «пришлифовка» ядра и цитоплазмы происходила не сразу после факта гибридизации, а в ряду последующих поколений и по-своему в каждом гибриде.

«Аллоплазматические линии» или ядерно-цитоплазматические гибриды, по-видимому, далеко не всегда являются сочетанием ядерных генов одного и органельных генов другого родителя, поскольку в процессе коадаптации материнские ДНК органелл могут замещаться на отцовские или изменяться (Sinyavskaja *et al.*, 2001; Kitagawa *et al.*, 2002; Aksyonova *et al.*, 2005).

Работа была частично поддержана грантами Белорусского № Б02-Р045 и Российского № 02-04-81007, № 05-04-48600 Фондов фундаментальных исследований.

Литература

Бильданова Л.Л., Салина Е.А., Першина Л.А. Особенности рекомбинаций ядерного генома у беккроссного потомства ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum vulgare* L. (2*n* = 14) × *T. aestivum* L. (2*n* = 42) // Генетика. 2003. Т. 39, № 12. Р. 1420–1426.

Гордей И.А., Гордей Г.М., Новикова Л.В. Создание ржано-пшеничных амфидиплоидов // Генетика. 1996. Т. 32, № 6. С. 783–787.

Коваль С.Ф., Федотова В.Д. Цитогенетическое и морфологическое изучение аллоплазматических линий сорта Новосибирская 67 // Генетика. 1995. Т. 31, № 6. С. 809–814.

Першина Л.А., Нумерова О.М., Белова Л.И. и др. Восстановление фертильности у беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum vulgare* L. × *Triticum aestivum* L. в зависимости от генотипов пшеницы, введенных в возвратные скрещивания // Генетика. 1999. Т. 35, № 2. С. 228–236.

Синявская М.Г., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. и др. Наследование органельных ДНК у гибридов ржи (*Secale cereale* L.) и тритикале (× *Triticale* Thch.) // Генетика. 2004. Т. 40, № 2. С. 218–223.

Синявская М.Г. Взаимосвязь структурных изменений ДНК хлоропластов с формированием элементов продуктивности у аллоплазматических линий пшеницы на цитоплазме ржи // Биологическая продуктивность растений и пути ее повышения: Сб. статей науч.-практ. конференции. Горки, 1999. С. 49–53.

Aksyonova E., Sinyavskaya M., Danilenko N. *et al.* Heteroplasmy and paternally oriented shift of the organellar DNA composition in barley–wheat hybrids during backcrosses by wheat parents // Genome. 2005. (In press).

Anderson J.A., Maan S.S. Interspecific nuclear-cytoplasmic compatibility controlled by genes on group 1 chromosomes in durum wheat // Genome. 1995. V. 38, N 4. P. 803–808.

Asakura N., Nakamura C., Ohtsuka I. A nuclear

compatibility gene, *Ncc-tmp*, of *Triticum timopheevii* for the cytoplasm of *Aegilops squarrosa* // Genes Genet. Syst. 1997. V. 72. P. 71–78.

Coulthart M.B., Spencer D.F., Gray M.W. Comparative analysis of a recombining-repeat-sequence family in the mitochondrial genomes of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.) // Curr. Genet. 1993. V. 23. P. 255–264.

Davydenko O.G., Terekhov A.Y., Fomchenko N.S. Structural alterations of chloroplast and mitochondrial DNA in progenies of the alloplasmic wheat with rye cytoplasm // Wheat Inform. Serv. 1992. № 75. P. 7–13.

Fedak G. Molecular aids for integration of alien chromatin through wide crosses // Genome. 1999. V. 42. P. 584–591.

Hattori N., Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Mitochondrial DNA heteroplasmy in wheat, *Aegilops* and their nucleus-cytoplasm hybrids // Genetics. 2002. V. 160. P. 1619–1630.

Laser B., Mohr S., Odenbach W. *et al*. Parental and novel copies of the mitochondrial *orf25* gene in the hybrid crop-plant triticale: predominant transcriptional expression of the maternal gene copy // Curr. Genet. 1997. V. 32. P. 337–347.

Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Evidence of paternal transmission of mitochondrial DNA in a nucleus-cytoplasm hybrid of timopheevi wheat // Genes Genet. Syst. 2002. V. 77. P. 243–250.

Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Selective transcription and post-transcriptional processing of the heteroplasmic mitochondrial orf156 copies in the nucleus-cytoplasm hybrids of wheat // Plant Mol. Biol. 2003. V. 53. P. 609–619.

Ohsako T., Wang G.-Z., Miyashita N.T. Polymerase chain reaction – single strand conformational polymorphism analysis of intra- and interspecific variations in organellar DNA regions of *Aegilops* mutica and related species // Genes Genet. Syst. 1996. V. 71. P. 281–292.

Pershina L.A., Numerova O.M., Belova L.I., Devyatkina E.P. Biotechnological and cytogenetic aspects of producing new wheat genotypes using hybrids // Euphytica. 1998. V. 100. P. 239–244.

Provan J., Russell J.R., Booth A., Powell W. Polymorphic chloroplast simple sequence repeat primers for systematic and population studies in the genus *Hordeum* // Mol. Ecology. 1999. V. 8. P. 505–511.

Shaked H., Kashkush K., Ozkan H. *et al*. Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat // Plant Cell. 2001. V. 13. P. 1749–1759.

Sinyavskaja M., Aksyonova E., Dubovets N. *et al*. Alloplasmic wheat with rye cytoplasm: peculiarities of organelle genomes integration and inheritance // Proc. Intern. Conf. «Genetic Collections, Isogenic and Alloplasmic Lines». Novosibirsk, 2001. P. 104–107.

Soliman K., Fedak G., Allard R.W. Inheritance of organelle DNA in barley and *Hordeum* × *Secale* intergeneric hybrids // Genome. 1987. V. 29. P. 867–872.

Tsujimoto H., Panayotov I., Tsunewaki K. Behavior of an extra chromosome carried by alloplasmic common wheat lines having *Agropyron trichophorum* cytoplasm // Japan J. Genet. 1987. V. 62. P. 291–299.

Tsukamoto N., Asakura N., Hattori N. *et al*. Identification of paternal mitochondrial DNA sequences in the nucleus-cytoplasm hybrids of tetraploid and hexaploid wheat with D and D2 plasmons from *Aegilops* species // Current Genetics. 2000. V. 38. P. 208–217.

Change of chloroplast and mitochondrial DNA at wide hybridization in cereals

M.G. Sinyavskaya[1], E.A. Aksyonova [1], L.A. Pershina[2], S.F. Koval [2], N.G. Danilenko [1], O.G. Davydenko [1]

[1] Institute Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus, e-mail: soyanort@home.by;
[2] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia,
e-mail: pershina@bionet.nsc.ru

Summary

The mode of organelle DNA inheritance was studied in wide gramineae crosses. We have analyzed by PCR – *trnS1*, *3'rbcL* chloroplast (cp) DNA regions and *coxI*, *coxIIE*, *5'cob*, *nad3-orf156*, *18s/5s* mitochondrial (mt) DNA regions. Biparental mtDNA regions were detected in the alloplasmic forms. We revealed also the possibility of maternal organelle DNA substitution by paternal and appearance of new (changed) organelle DNA loci in backcrossed selfpollinated wide crosses hybrids. The nuclear role in this process is discussed.

УДВОЕННЫЕ ГАПЛОИДЫ В ИЗУЧЕНИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Е.В. Левитес[1], А.М. Свирщевская[2], С.С. Кирикович[1], Л.В. Милько[2]

[1] Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: levites@bionet.nsc.ru, [2] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: annasv@minsk.sovam.com

Проведено изучение полиморфизма по ферментным локусам *Adh1*, *Idh1*, *Idh3*, *Me1 и Pgd1*, контролирующим, соответственно, алкогольдегидрогеназу, изоцитратдегидрогеназу, малик-фермент и 6-фосфоглюконатдегидрогеназу в линиях удвоенных гаплоидов сахарной свеклы гиногенетического происхождения, культивируемых *in vitro* и *in vivo*. В обоих вариантах опытов – у регенерантов и в семенном потомстве – выявлены качественные изменения в экспрессии четырех из пяти исследованных генов, возникающие в процессе формирования линий удвоенных гаплоидов.

Введение

Одним из факторов, способных вызывать эпигенетические изменения у растений, является полиплоидия (Scheid *et al.*, 1996; Matzke *et al.*, 1999). В большинстве проведенных к настоящему времени экспериментов плоидность растений изменялась от диплоидного к более высоким уровням. При полиплоидизации возможны парамутагенные–парамутабильные взаимоотношения между аллелями исходного растения. В связи с этим представляет интерес оценка степени изменчивости и стабильности генов при переводе растения с гаплоидного уровня на диплоидный, когда исходное растение несет всего лишь один аллель. Такой переход можно наблюдать в процессе экспериментального гиногенеза *in vitro* и последующего формирования линий удвоенных гаплоидов гиногенетического происхождения *in vivo*. Именно такая модель была использована при исследовании полиморфизма изоферментных спектров в культивируемых *in vitro* регенерантах исходно гаплоидных линий сахарной свеклы (Levites *et al.*, 2005), а также в семенных потомствах таких линий, прошедших культивирование *in vitro* и последующее размножение *in vivo* (Kirikovich *et al.*, 2003).

Материалы и методы

Материал для анализа получали из растений диплоидных сортов сахарной свеклы Белорусская односемянная 69 (Бел 69), Ганусовская односемянная 55 (Ган 55), Белоцерковская односемянная 40 (Бц 40) и Янаш А3. Удвоенные гаплоиды получали с помощью технологии экспериментального гиногенеза *in vitro* (Svirshchevskaya, Dolezel, 2000). В эксперименты были взяты семена трех сортов-доноров и двух линий удвоенных гаплоидов: Янаш-КУГ и Бц 40-СУГ(35) РК. Эти линии, происходящие из неоплодотворенных семяпочек донорных растений диплоидных сортов Янаш А3 и Бц 40, исходно были гаплоидными. Для удвоения числа хромосом у регенерантов Янаш-КУГ использовали колхицин, а полиплоидизация гаплоида Бц 40-СУГ(35)РК происходила спонтанно при его длительном (более двух лет) культивировании в условиях *in vitro*.

Семенное потомство этих линий получали переопылением *in vivo* удвоенных гаплоидов, полученных от одного индивидуального растения сорта под бязевыми изоляторами (по 3–5 штук) при первой репродукции и на отдельных изолированных участках (по 25–30 штук) при второй репродукции.

Значительную часть опытов составил ана-

лиз изоферментных спектров в культивируемых *in vitro* регенерантах сахарной свеклы гиногенетического происхождения. В анализ были взяты 12 гиногенетических линий, каждая из которых происходила из одной неоплодотворенной семяпочки донорного диплоидного растения одного из сортов: Янаш А3, Бц 40, Бел 69 или Ган 55. Спецификой использованной модели является то, что каждая из исследованных линий явилась результатом микроклонального размножения *in vitro* единичного гаплоидного растения-регенеранта (Svirshchevskaya, Dolezel, 2001).

В качестве маркерных признаков были выбраны изоферментные спектры алкогольдегидрогеназы (ADH1, E.C.1.1.1.1.), изоцитратдегидрогеназы (IDH1 и IDH3, E.C.1.1.1.42.), малик-фермента (ME1, E.C.1.1.1.40.) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (PGD1; E.C. 1.1.1.44.), контролируемые соответственно локусами *Adh1*, *Idh1*, *Idh3*, *Me1*, и *Pgd1* (Levites, Garifullina, 1988).

Результаты и обсуждение

При исследовании семян трех сортов сахарной свеклы Бел 69, Ган 55 и Бц 40, являющихся донорами линий гиногенетического происхождения, было установлено, что они мономорфны по алкогольдегидрогеназе (ADH1) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназе (PGD1) и все исследованные семена этих сортов имели фенотипы ADH1-FF и PGD1-FF соответственно (табл. 1). По изоцитратдегидрогеназе (IDH1) был полиморфен лишь сорт Бц 40, остальные два сорта были мономорфны, все исследованные семена этих сортов имели фенотип IDH1-FF. По изоцитратдегидрогеназе-3 (IDH3) полиморфизм был выявлен лишь в сорте Бел 69. Все исследованные сорта были полиморфны по малик-ферменту, но в меньшей степени этот полиморфизм проявился в сорте Бц 40, поскольку в исследованных семенах этого сорта было обнаружено лишь два фенотипических класса в соотношении 2FS : 16SS.

Линия удвоенного гаплоида Янаш-КУГ, полученная из сорта Янаш А3, а также линия Бц 40-СУГ(35)РК, полученная из сорта Бц 40, были мономорфны по ADH1 и имели такой же фенотип (ADH1-FF), как и исходные сорта. Это говорит о достаточной стабильности локуса *Adh1* при переводе растения с гаплоидного уровня на диплоидный. Обращает на себя внимание полиморфизм этих линий по малик-ферменту. Выявленные в линии Янаш-КУГ фенотипы по малик-ферменту (3FC : 12FF : 20FS : 39SS : 4CS) говорят о том, что исходное растение, взятое для получения удвоенных гаплоидов, было гетерозиготно по локусу, контролирующему малик-фермент. Наиболее вероятный генотип этого растения был *Me1-F/Me1-S*, поскольку частота фенотипов FF, FS и SS в

Таблица 1

Соотношение фенотипов маркерных ферментов
в семенах диплоидных сортов и удвоенных гаплоидных линий сахарной свеклы

Анализируемый материал	ADH1	IDH1	IDH3	ME1	PGD1
	FF–FS–SS	FF–FS–SS	FF–FS–SS	CC–FC–FF–FS–SS–CS	FF–FS–SS
Сорт Бц 40	70–0–0	36–24–9	68–0–0	0 – 0 – 0 – 2 – 16 – 0	17–0–0
Сорт Бел 69	40–0–0	40–0–0	22–16–1	0 – 0 – 3 – 12 – 15 – 0	10–0–0
Сорт Ган 55	74–0–0	85–0–0	85–0–0	0 – 5 – 19 – 14 – 1 – 1	28–0–0
Янаш КУГ	52–0–0	48–2–0	41–17–1	0 – 3 – 12 – 20 – 39 – 4	–
БЦ 40 СУГ(35) РК	55–0–0	93–0–0	22–37–19	0 – 7 – 18 – 35 – 18 – 1	–

КУГ – удвоенный гаплоид, полученный колхицинированием; СУГ – удвоенный гаплоид, полученный путем длительного (более двух лет) культивирования *in vitro*, сопровождаемого спонтанной диплоидизацией; РК – рекультивированная линия, т. е. проведенная через циклы культивирования *in vitro* два раза. Типы изоферментных спектров (фенотипы) обозначали как: FF (спектр, представленный изоферментом с быстрой электрофоретической подвижностью), CC или SS (спектры, представленные изоферментами с самой быстрой или, соответственно, с медленной электрофоретической подвижностью), FC, FS и CS – спектры, характерные для гетерозигот и имеющие в своем составе изоферменты с промежуточной электрофоретической подвижностью.

этой линии значительная. Однако в этой линии выявлены также продукты третьего аллеля – *Me1-C*. На это указывают встречающиеся с небольшой частотой фенотипические классы FC и CS (Kirikovich *et al.*, 2003). Этот факт не вписывается в представления, основанные только на законах классической менделевской генетики, но он может быть объяснен на основе представлений, используемых в неканонической генетике и, в частности, на основе понятий об эпигенетической изменчивости. Для обозначения феномена появления продукта третьего аллеля в потомстве диплоидного гетерозиготного растения предложен термин «редетерминация» (Levites *et al.*, 2001). Редетерминация – это качественное изменение экспрессии аллеля ферментного локуса, заключающееся в том, что он начинает определять образование изоферментов, сходных по своим свойствам с изоферментами, соответствующими другим аллелям данного локуса.

Аналогично высокий уровень полиморфизма по малик-ферменту выявлен в линии удвоенного гаплоида Бц 40-СУГ(35)РК (7FC : 18FF : 35FS : 18SS : 1CS), прошедшей двукратную половую репродукцию и двукратное (повторное) культивирование *in vitro* (Kirikovich *et al*., 2003). Количественное и качественное сходство изменчивости малик-фермента у линий, прошедших либо обработку колхицином, либо повторные циклы культивирования в условиях *in vitro*, свидетельствует о сходстве механизмов, лежащих в основе этой изменчивости. Это хорошо согласуется с данными о влиянии колхицина на характер эпигенетической изменчивости в агамоспермных потомствах растений сахарной свеклы (Levites *et al.*, 2000).

Полиморфизм ферментов, выявляемый в семенных потомствах удвоенных гаплоидов, свидетельствует о том, что переход растений с гаплоидного уровня на диплоидный приводит к изменениям в экспрессии генов, кодирующих эти ферменты (Kirikovich *et al.*, 2003). В связи с этим была предпринята попытка выяснить, в какой момент времени эти изменения происходят: непосредственно при диплоидизации *in vitro* или на стадии первичной репродукции *in vivo*, т. е. при переопылении растений, полученных микроразмножением одного и того же первичного гаплоидного регенеранта семяпочечного происхождения.

Для этого исследовали экспрессию маркерных ферментных генов в культивируемых *in vitro* регенерантах сахарной свеклы. Необходимо подчеркнуть, что в данной части работы исследовали линии растений-регенерантов, каждая из которых была получена путем микроклонального размножения единичного гаплоидного растения-регенеранта свеклы. При использовании этой экспериментальной модели учитывалось, что гаплоидные (x) растения-регенеранты в процессе культивирования *in vitro* постепенно, через миксоплоидию ($x + xx$) переходят на диплоидный (xx) уровень плоидности (Svirshchevskaya, Dolezel, 2001).

Анализ уровня плоидности у растений-регенерантов *in vitro* проводили методом световой микроскопии путем подсчета числа хромосом в листьях на стадии метафазы (Бормотов и др., 1976) и цитофотометрированием (Svirshchevskaya, Dolezel, 2001).

Результаты, полученные в ходе биохимического анализа культивируемых *in vitro* 12 линий, представлены в табл. 2. Линии растений-регенерантов были мономорфны по ADH1 и имели фенотип FF, аналогичный фенотипу исходных сортов сахарной свеклы. Это указывало на стабильность локуса *Adh1* в растениях-регенерантах (Levites *et al*., 2005).

По IDH1 выявлены как мономорфные, так и полиморфные линии растений-регенерантов (Levites *et al*., 2005). Полиморфизм выявлен, например, в длительно культивируемых *in vitro* исходно гаплоидных линиях Янаш 2(2) и Янаш СУГ 58(4), полученных от растений сорта Янаш А3. В линии Янаш 2(2) обнаружено 13 растений фенотипа IDH1-FF и 3 растения с мозаичным фенотипом IDH1-(FF+FS). Мозаичный фенотип характеризуется тем, что в одном листе данного растения выявляется спектр IDH1-FF, характерный для гомозигот, а в другом листе того же самого растения – гетерозиготный фенотип IDH1-FS. В линии Янаш СУГ 58(4) аналогично было выявлено 4 растения фенотипа IDH1-FF, 2 растения фенотипа IDH1-FS и 3 растения фенотипа с мозаичным фенотипом IDH1-(FF+FS). Цитофотометрический анализ этих линий показал наличие гаплоидных клеток с высокой достоверностью, так как в каждом из двух образ-

Таблица 2

Частоты фенотипов ADH1 и IDH1 у растений-регенерантов сахарной свеклы гиногенетического происхождения

Название линии	Данные цитоанализа* (общее число клеток/ из них гаплоидных клеток)	ADH1	IDH1		
		FF – FS – SS	FF – FS – SS		
Бел 69-3(5)-10(1)	10/10	14 – 0 – 0	0	4с + 6м	4
Бел 69-3(5)-10(4)	10/10	–	0	0	8
Бел 69-3(7)	30/30	3 – 0 – 0	14	0	0
		5 – 0 – 0	9	0	0
Бел 69-3(14)	4621/2060*	9 – 0 – 0	7	1	0
		8 – 0 – 0	8	0	0
Бел 69-3(15)	3123/1050*	7 – 0 – 0	0	0	7
		8 – 0 – 0	0	0	8
		6 – 0 – 0	0	0	8
Бел 69-3(16)	4895/2544*	13 – 0 – 0	14	0	0
		8 – 0 – 0	8	0	0
Ган 55-5(2)	3209/854*	9 – 0 – 0	0	0	10
		–	0	0	9
		–	0	0	8
Ган 55-7(2)	4805/1513*	13 – 0 – 0	0	0	13
		–	0	0	13
Ган 55-7(5)	10/10	16 – 0 – 0	2	6с + 8м	1
		–	0	2с + 9м	1
Янаш 2(2)	4573/1660*	9 – 0 – 0	10	0	0
		15 – 0 – 0	13	3 м	0
Янаш 58(4)	4049/1971*	11 – 0 – 0	4	2с + 3м	0
		–	13	0	0
Бц 40 35/ЗРК^2	10/0 УГ	6 – 0 – 0	11	0	0
		–	5	5	3

УГ – удвоенный гаплоид, с – стабильный фенотип, м – мозаичный фенотип. * Результаты цитофотометрического анализа, представляющие собой средние из 5 повторностей для каждого генотипа; уровень плоидности определен в данном случае по относительному содержанию ДНК в ядрах клеток листовой ткани регенерантов: общее число ядер равно сумме 1С, 2С, 4С и 8С ядер, число гаплоидных ядер соответствует числу 1С. Данные, не отмеченные знаком *, получены методом световой микроскопии. Количество строчек для каждого номера соответствует количеству проанализированных чашек Петри.

цов из более чем 4000 ядер гаплоидными оказались соответственно 1660 и 1971; остальные клетки этих линий имели диплоидный и более высокий уровень плоидности (Svirshchevskaya, Dolezel, 2001; Levites *et al.*, 2005). Появление гетерозиготных и мозаич-

ных фенотипов хорошо согласуется с данными микроскопии и цитофотометрии, свидетельствующими о постепенном увеличении уровня плоидности регенерантов при их длительном культивировании. Таким образом, миксоплоидность растений сопровождается их мозаичностью по типу изоферментного спектра. Это указывает на то, что переход растения на более высокий уровень плоидности сопряжен с изменением экспрессии маркерного гена. Всего из 12 линий удвоенных гаплоидов в 5 линиях был выявлен полиморфизм по IDH1. В 4 гомозиготных линиях (Бел 69-3(5)-10(4), Бел 69-3 (15), Ган 55-5(2), Ган 55-7(2)) (табл. 2) обнаружена редетерминация: вместо аллеля *Idh1-F*, присутствовавшего в исходных сортах сахарной свеклы, в этих линиях выявлялся аллель *Idh1-S*.

Анализ изоферментных спектров PGD также выявил полиморфизм по быстромигрирующей зоне PGD1 среди регенерантов линий Бел 69-3(14) и Ган 55-5(2). Этот полиморфизм трудно интерпретировать, поскольку ранее в этой зоне у изученных сортов свеклы он выявлен не был (Levites, Garifullina, 1988), так же, как и в семенах сортов, взятых для получения линий удвоенных гаплоидов (табл. 1). Нестабильность локусов *Idh1* и *Pgd1*, контролирующих IDH1 и PGD1, при стабильности локуса *Adh1*, контролирующего ADH1, предполагает, что изменение уровня плоидности в соматических клетках побегов регенерантов свеклы является не единственным фактором, определяющим различную экспрессию генов в тканях побегов при их культивировании *in vitro*.

Результаты, полученные при исследовании гиногенетических регенерантов сахарной свеклы *in vitro*, хорошо согласуются с данными об обусловленном эпигенетической изменчивостью полиморфизме изоферментных спектров в половом потомстве удвоенных гаплоидов сахарной свеклы (Kirikovich *et al*., 2003). Высокая частота фенотипических изменений в экспрессии маркерных генов у культивируемых *in vitro* и *in vivo* исходно гаплоидных регенерантов сахарной свеклы свидетельствует о том, что они сохраняются не только в ряду клеточных, но и половых поколений, т. е. наследуются, а изменение уровня плоидности является важным фактором, влияющим на характер эпигенетической изменчивости у растений.

Литература

Бормотов В.Е., Загрекова Н.Н., Матросов Б.Ф. и др. Обзоры по цитогенетике полиплоидных форм сахарной свеклы. Минск: Наука и техника, 1976. С. 62–68.

Kirikovich S.S., Svirshchevskaya A.M., Levites E.V. Variation at isozyme loci in seed offspring of sugar beet gynogenetic lines // Sugar Tech. 2003. V. 5, N 4. P. 289–292.

Levites E.V., Garifullina F.Sh. Use of isozymes as genetic markers for identification of sugar beet varieties // Biochemical Identification of Varieties: Materials of the 3th International Symposium ISTA. Leningrad, USSR, 1988. P. 104–109.

Levites E.V., Denisova F.Sh., Kirikovich S.S., Judanova S.S. Ratios of phenotypes at the *Adh1* locus in the apozygotic offspring in sugarbeet (C_1 generation) // Sugar Tech. 2000. V. 2, N 4. P. 26–30.

Levites E.V., Shkutnik T., Shavorskaya O.A., Denisova F.Sh. Epigenetic variability in agamospermous progeny of sugar beet // Sugar Tech. 2001. V. 3, N 3. P. 101–105.

Levites E.V., Svirshchevskaya A.M., Kirikovich S.S., Mil'ko L.V. Variation at isozyme loci in cultured *in vitro* sugar beet regenerants of gynogenetic origin // Sugar Tech. 2005. V. 7, N 1. P. 71–75.

Matzke M.A., Scheid O.M., Matzke A.J.M. Rapid structural and epigenetic changes in polyploidy and aneuploid genomes // BioEssay. 1999. V. 21. P. 761–767.

Scheid O.M., Jakovleva L., Afsar K. *et al*. A change of ploidy can modify epigenetic silencing // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 7114–7119.

Svirshchevskaya A.M., Dolezel J. Production and performance of gynogenetic sugarbeet lines // J. Sugar Beet Res. (USA). October-December. 2000. V. 37, N 4. P. 117–133.

Svirshchevskaya A.M., Dolezel J. Karyological characterization of sugar beet gynogenetic lines cultured *in vitro* // J. Appl. Genet. 2001. V. 42, N 1. P. 21–32.

Use of double haploids of sugar beet for the study of epigenetic variability

E.V. Levites[1], A.M. Svirshchevskaya[2], S.S. Kirikovich[1], L.V. Milko[2]

[1] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia,
e-mail: levites@bionet.nsc.ru, [2] Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk,
Belarus, e-mail: annasv@minsk.sovam.com

Summary

Polymorphism assessment on alcohol dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, malic enzyme and 6-phosphogluconate dehydrogenase loci has been conducted in sugar beet doubled haploid lines of gynogenetic origin cultured *in vitro* and *in vivo*. Qualitative changes in gene expression in four out of five genes under investigation were shown to take place in both experimental variants (regenerants and seed progeny) during the process of doubled haploid line formation from a haploid regenerant.

ГЕНЕТИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

А.В. Кильчевский

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь,
e-mail: A.Kilchevsky@igc.bas-net.by

Рассмотрена взаимосвязь средовых факторов, направлений и задач селекции растений. Обсуждаются концептуальные модели сортов растений, соответствующие уровню энерговклада в технологию возделывания сорта. Предложена концепция малого и большого информационного канала в селекции растений с целью повышения эффективности селекционного процесса. Проведен анализ основных закономерностей взаимодействия «генотип × среда» для генотипов и сред. Обсуждаются принципы и подходы к экологической организации селекционного процесса.

Селекция растений и экология

Сорт растений как основа технологии возделывания любой культуры является результатом сложного взаимодействия «генотип–среда», поскольку может реализовать продукционный потенциал и технологические качества только в конкретных средовых условиях. В данном случае под средой имеются в виду как почвенно-климатические, так и технологические условия возделывания. Фактически создание сорта предполагает не только получение и отбор новых генотипов, но и поиск экологической ниши, где этот генотип (генотипы) обеспечит высокую продуктивность, экологическую стабильность и качество продукции как основные цели селекции растений. Таким образом, селекционер, по сути, не изучает и отбирает генотипы как таковые, а оценивает их норму реакции на абиотические, биотические и антропические факторы среды (табл. 1).

Взаимодействие генотипа с отдельными группами факторов давно является предметом исследований генетиков, селекционеров, физиологов, экологов, фитопатологов. Достаточно глубоко изучена природа взаимодействия генотипов растений с абиотическими факторами. Что касается взаимодействия с биотическими факторами, то ряд типов взаимодействия представляет интерес как объект изучения селекционеров. Ю. Одум (1986) классифицировал все типы взаимодействия живых организмов знаками +, 0, – (от конкуренции *(– –) до симбиоза $^{+}$(+ +). Как известно, именно в этом направлении обычно движется в сукцессионном процессе любой природный биоценоз. Поэтому задачей селекционера, создающего сорт как основу устойчивого агробиоценоза, является минимизация взаимодействий типа (– –) и максимизация взаимодействий типа (+ +). Особый интерес в этой связи представляют направления селекции на создание многолинейных сортов, устойчивых к различным расам патогенов, с компонентами – линиями, минимально конкурирующими за ресурсы среды. Новым направлением селекции является симбиотическая селекция, причем не только по отношению к бобовым, вступающим в облигатный симбиоз с бактериями, но и по отношению к ряду других растений, генотипы которых проявляют специфическое взаимодействие с ассоциативной микрофлорой почвы. Представляет интерес отбор генотипов, подавляющих сорняки, привлекающих насекомых и др. Третья группа факторов – антропическая – предполагает создание генотипов, адекватных определенной технологии и вкладу в нее энергии в виде удобрений, пестицидов, регуляторов роста, топлива и т. д. (low input variety, high input variety – сорта низкого и высокого энерговклада в технологию).

S. Ceccarelly (1989, 1994) показал, что создание универсальных сортов для различных уровней энерговклада в технологию – нерешаемая задача. Каждому уровню энерговклада

Таблица 1

Связь средовых факторов, направлений и задач селекции

Факторы среды	Направления и задачи селекции
Абиотические: Температура Освещенность Осадки Почвенные условия (гранулометрический состав, pH, засоленность и др.).	Селекция на устойчивость к лимитирующим значениям и максимальное использование оптимальных значений факторов среды.
Биотические: Популяционный уровень	Селекция конкурентоспособных генотипов для одновидовых посевов.
Биоценотический уровень: взаимодействие с организмами, подавляющими развитие культурного растения (сорняки, вредители, микроорганизмы-патогены).	Селекция на устойчивость к вредителям и патогенам, подавление сорной растительности.
Взаимодействие с организмами, способствующими развитию культурного растения.	Селекция генотипов, проявляющих повышенный урожай в смесях с другими видами растений; отбор генотипов, вступающих в симбиотические взаимоотношения с почвенной микрофлорой; отбор генотипов, привлекающих насекомых-опылителей и др.
Антропические факторы Внесение дополнительной энергии в агробиоценоз (удобрения, пестициды, регуляторы роста, орошение, обработка почвы, регуляция микроклимата в теплицах и др.).	Создание сортов для технологий с определенным уровнем энергозатрат (интенсивные технологии, традиционные технологии, биологическое земледелие).
Загрязнение агроландшафта поллютантами (радионуклиды, тяжелые металлы, пестициды, нитраты и др.).	Создание сортов с высоким качеством продукции и минимальным накоплением поллютантов.
Усиление эрозионных процессов.	Повышение средообразующей функции сортов в процессе селекции.

должен соответствовать и свой идиотип (модель) сорта. Кроме того, особый интерес в связи с загрязнением агроландшафта поллютантами (радионуклиды, тяжелые металлы, нитраты, пестициды и др.) представляет подбор или создание генотипов с минимальным их накоплением. Нами установлено, что внутривидовое разнообразие по накоплению поллютантов (нитраты, тяжелые металлы, радионуклиды) у овощных культур может различаться в 2–5 раз, что позволяет вести эффективный отбор генотипов, обеспечивающих получение экологически безопасной продукции. А.В. Кильчевский и Л.В. Хотылева (1997) предложили концептуальные модели сортов для различного уровня энерговклада в технологию (табл. 2).

Селекция растений и информация

Проблема взаимодействия «генотип–среда» проявляется на двух уровнях: в онтогенезе, что приводит к канализации развития генотипа в определенном направлении и в селекционном процессе в целом. Селекция представляет собой процесс микроэволюции, сжатый во времени и пространстве (Кадыров, 1991). Эволюция может рассмат-

Таблица 2

Концептуальные модели сортов растений

Тип сорта	Уровень энергетических затрат	Цель производства	Отзывчивость на регулируемые факторы среды	Устойчивость к нерегулирумым факторам среды	Использование средств интенсификации	Способность к накоплению поллютантов	Степень загрязнения окружающей среды при возделывании
Сорт для биологического земледелия	Низкий	Урожай средний, экологический, чистая продукция	Низкая	Высокая	Минимальное применение удобрений и природных средств защиты	Низкая	Низкая
Полуинтенсивный стабильный сорт, сорт широкого ареала	Средний	Урожай средний или выше среднего, экологически безопасная продукция	Средняя	Высокая или средняя	Умеренное применение удобрений, пестицидов, регуляторов роста	Низкая	Средняя
Интенсивный сорт	Высокий	Урожай высокий, экологически безопасная продукция	Высокая		Интенсивное применение удобрений, пестицидов, орошения, регуляторов роста	Низкая	Средняя

риваться как автоматически регулируемый процесс и является предметом биологической кибернетики, изучающей самоорганизацию биологических систем, информационные процессы в них и управление этими процессами. И.И. Шмальгаузен (1968, 1983) выделяет два канала связи для передачи информации. Первый канал – реализация генетической информации в процессе онтогенеза (носитель прямой информации ген). Второй канал – естественный отбор приспособленных генотипов в результате действия биоценозов на популяцию особей (носитель обратной информации фенотип).

На наш взгляд, весьма продуктивным может быть использование кибернетических подходов к эволюции, разработанных И.И. Шмальгаузеном, применительно к информационному обеспечению селекционного процесса. Поскольку действие естественного отбора имеет место и при селекции, сохраняют свое значение первый канал связи (в онтогенезе) и второй канал связи (на уровне популяции). Однако передача информации по первому и второму каналам связи имеет свою специфику.

Специфика реализации генетической информации по первому каналу связи выражается в первую очередь в комфортных условиях культивирования и управляемости онтогенезом по воле человека. В результате в культуре обычно сильно проявляются признаки, связанные с условиями культивирования и представляющие интерес для человека. Среда «подставляет» под действие отбора одни признаки и может не выявлять другие. При этом приспособительное значение признаков отходит на второй план. Для селекционера важны здесь два момента: соответствие условий культивирования генотипа будущей эконише сорта (отсутствие адекватности условий приводит к резкому изменению фенотипов и может рассматриваться как информационная помеха) и стадия онтогенеза, на которой возможен отбор, в том числе косвенный. Отбор на уровне клетки или группы клеток (клеточная селекция), а также на ранних стадиях онтогенеза (гаметофит, зиготы, семена, проростки) возможен только при наличии связи между проявлениями признака на этих стадиях и на уровне взрослого растения.

Второй канал связи имеет место и в селекции. Специфика его проявляется в ослаблении действия биоценоза на селектируемую популяцию; организованности всех этапов селекционной работы; качественном отличии методов и направления отбора в питомниках и др. В связи с этим в селекции правильнее рассматривать не отдельные звенья селекционной цепи в качестве элементарных информационных каналов, а всю их совокупность начиная от выбора исходного материала до использования сорта в конкретном регионе возделывания. Такой канал связи мы назвали большим информационным каналом (рис.), а реализацию генетической информации в онтогенезе – малым информационным каналом (Кильчевский, 1994).

Введение этих терминов позволяет более четко подойти к проблеме использования информации в селекции. Понятие «большой информационный канал» позволяет более конкретно поставить вопрос об адекватности эколого-генетической информации идиотипу, условиям культивирования в производстве, типизации условий отбора на всех этапах селекции и их привязке к будущим условиям возделывания, правильной экологической целенаправленности на конкретную эконишу сорта, отбору как по среднему значению признака, так и по норме реакции. Потеря или искажение информации в большом информационном канале равноценна потере селекционного материала и снижению эффективности селекции.

Большой интерес представляет вопрос о помехах в большом и малом информационных каналах и их устранении. Главной помехой получения объективной информации является взаимодействие «генотип–среда» (ВГС).

Взаимодействие генотипа и среды связано с различной нормой реакции генотипов и изменением их рангов в различных средах. Конкретными причинами проявления ВГС могут быть резкие отклонения условий культивирования от нормальных (лимиты абиотических факторов, эпифитотии и др.) ВГС на организменном уровне изменяет «траекторию онтогенеза», что выражается в изменении фенотипов; на популяционном уровне ВГС выражается в изменении группы генотипов, «подставляемых» средой под действием отбора в качестве лучших. Целе-

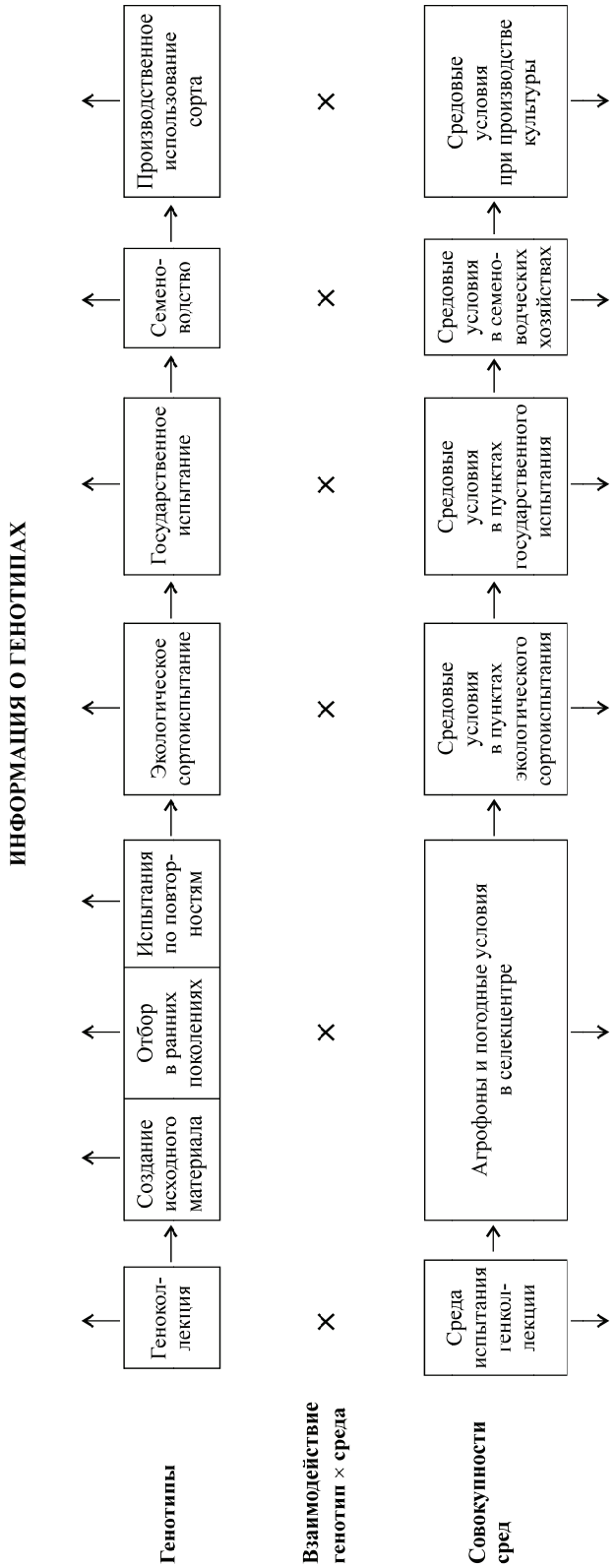

Рис. Большой информационный канал в селекции растений.

сообразно использовать единые биологические индикаторы – сорта-тестеры, которые, сохраняя или изменяя ранги в различных условиях среды в большом информационном канале, могут служить свидетельством наличия или отсутствия помех в информационном канале. В этом случае следует снижать интенсивность отбора.

Взаимодействие «генотип–среда» и его оценка

Существуют различные статистические методы анализа взаимодействия генотипа и среды. При их выборе селекционеру следует обратить внимание на два момента. Во-первых, взаимодействие генотипа и среды является статистическим феноменом, связанным с неаддитивностью эффектов генотипов и сред. Когда изучается совокупность генотипов (популяция), эффект ВГС, определенный на основе дисперсионного, регрессионного или иного анализа, говорит о «несхожести» норм реакции генотипов и может представлять интерес для характеристики селектируемой популяции. Однако ряд статистических методов предполагает расчленение вариансы ВГС пропорционально конкретным генотипам (Wricke, 1962; Eberhart, Russell, 1966; Tai, 1971), причем этот параметр авторами предлагается как мера экологической стабильности. Такой подход неправомерен. К примеру, уникальный сорт, сочетающий в себе продуктивность и стабильность, в популяции нестабильных генотипов с близкой нормой реагирования на среду может вносить существенный вклад во взаимодействие «генотип–среда», что приведет к его выбраковке. C.S. Lin, M.R. Binns (1988, 1991) установили, что параметры такого типа (эковаленса G. Wricke и варианса отклонений от линии регрессии S.A. Eberhart, W.A. Russell) не наследуются и бесполезны для селекции. Наиболее информативны и наследуемы средовая варианса каждого генотипа и коэффициент вариации генотипа в средах.

Как правило, большинство методов статистического анализа ВГС предполагают оценку приспособленности генотипов или параметров среды. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева (1985, 1989) предложили метод анализа ВГС, который позволяет одновременно анализировать общую и специфическую адаптивную способность генотипов и давать оценку среде как фону для отбора.

Под адаптивной способностью понимается способность генотипа поддерживать свойственное ему фенотипическое значение признака в определенных условиях среды.

Общая адаптивная способность генотипа (ОАС) характеризует среднее значение признака в различных условиях среды, специфическая адаптивная способность (САС) – отклонение от ОАС в определенной среде.

Предложенный нами метод оценки ОАС и САС основан на испытании популяции из n генотипов в m средах. Число повторений равно c. Тогда

$$x_{ikr} = u + v_i + d_k + (vd)_{ik} + e_{ikr},$$

где x_{ikr} – фенотипическое значение i-го генотипа, выращенного в k среде в r повторении; u – общая средняя всей совокупности фенотипов; v_i – эффект i-го генотипа; d_k – эффект k среды; $(vd)_{ik}$ – эффект взаимодействия i-го генотипа с k средой; e_{ikr} – эффект, обусловленный случайными причинами и отнесенный к ikr фенотипу.

Эффект общей адаптивной способности i-го генотипа OAC_i равен v_i, отклонение от суммы $u + v_i$ будет составлять эффект специфической адаптивной способности i-го генотипа в k среде – CAC_{ik}.

В качестве меры стабильности i-го генотипа предлагается применять вариансу CAC_i:

Введем понятие относительной стабильности генотипа:

$$\sigma^2_{CAC_i} = \frac{1}{m-1}\sum_k (d_k + vd_{ik})^2 - \frac{m-1}{m}\sigma^2.$$

Этот показатель позволяет сравнивать результаты опытов, проведенных с различным набором культур, генотипов, сред, изучаемых признаков.

$$S_{gi} = \frac{\sigma_{CAC_i}}{u + OAC_i} \cdot 100\ \%.$$

Для одновременного отбора по продуктивности и стабильности предлагается использовать селекционную ценность генотипа, которая вычисляется по формуле:

$$СЦГ_i = u + OAC_i - p\sigma_{CAC_i},$$

$$P = \frac{100}{2\bar{s}_g}, \qquad \bar{S}_g = \frac{S_{g1} + \ldots + S_{gn}}{n}.$$

Предлагаемой для вычисления *СЦГ* формулой можно пользоваться только в том случае, если отбор идет в сторону увеличения значения признака. Если отбираются генотипы с наименьшим значением признака, формула имеет вид:

$$СЦГ_i = u + OAC_i + p\sigma_{CAC_i}.$$

Важным аспектом ВГС в селекции растений является оценка среды как фона для отбора. Основными параметрами, характеризующими пригодность среды как фона, являются: типичность среды; способность среды выявлять изменчивость в селектируемой популяции (дифференцирующая способность); продуктивность среды; повторяемость параметров среды по годам и при изменении набора генотипов.

Под типичностью конкретной среды понимается ее способность сохранять ранги генотипов, полученные при усредненной оценке во всей совокупности сред, для которых ведется селекция. Количественной мерой типичности среды может служить коэффициент корреляции t_k между значениями признака у генотипов в данной среде и средними значениями генотипов при их изучении в ряде сред.

$$\sigma^2_{ДДС_i} = \frac{1}{n-1}\sum_i (v_i + vd_{ik})^2 - \frac{n-1}{n}\sigma^2.$$

Для определения дифференцирующей способности k среды можно использовать вариансу:

Относительная дифференцирующая способность среды:

$$S_{ek} = \frac{\sigma_{ДСС_k}}{u + d_k} 100\ \%$$

позволяет сопоставлять способность среды выявлять изменчивость по различным признакам в популяциях разных культур.

В качестве комплексного показателя, позволяющего ранжировать среды по их пригодности в качестве селекционного фона (Кильчевский, 1986), предложен коэффициент предсказуемости:

$$P_k = \frac{t_k S_{ek}}{100\%}.$$

Селекционный материал в процессе селекционно-семеноводческой работы оценивается в нескольких основных совокупностях сред, а именно: в генбанках при изучении коллекции; научно-исследова-тельских учреждениях, создающих сорт и осуществляющих экологическое сортоиспытание; в специализированных семеноводческих хозяйствах; хозяйствах, непосредственно занимающихся производством данной культуры.

Общая направленность селекционного процесса – увеличение количества пунктов испытания и переход от последовательной оценки материала в одном пункте за один год к параллельной оценке в нескольких пунктах в течение нескольких лет. В качестве особой совокупности сред могут быть выделены также условия культивирования клеток и тканей *in vitro* при проведении клеточной селекции. Именно эти среды, а также условия отбора в ранних поколениях (F_2–F_4) являются наиболее «узкими» местами при оценке генотипов по хозяйственно ценным признакам. Предложенная нами концепция основных совокупностей сред в селекции растений предъявляет к ним следующие требования:

– совокупности сред должны моделировать разнообразие предсказуемых и непредсказуемых условий производства в том регионе, для которого ведется отбор;
– схема селекционного процесса должна позволять вести оценку не только среднего значения признака генотипа, но и его экологической стабильности, а также давать возможность анализировать и оптимизировать параметры среды как фона для отбора;
– в селекционном процессе должен быть реализован принцип экологической направленности на конечную совокупность сред – производственные условия региона, где будет возделываться сорт. Для этого необходимо использование на различных этапах биологических индикаторов (3–4 сортов-тестеров), ранее испытанных в Госсортосети. Нами определены основные тре-

бования к тестерам. Сорта-тестеры должны различаться по продуктивности, реагировать на изменения условий среды (быть нестабильными), обладать различной реакцией на среду.

Предлагаемый подход позволит рассматривать отдельные этапы селекционного процесса как единое целое, обосновать методические подходы к выбору пунктов экологического и государственного сортоиспытания, правильность расположения селекционного учреждения, выбор агроприемов, соответствующих селекционной задаче.

Экологическая организация селекционного процесса

Нами изучены проблемы взаимодействия «генотип × среда» на различных этапах селекционного процесса овощных культур и картофеля от выбора исходного материала и до испытания в Госсортосети включительно (Кильчевский, 1994). Установлен ряд закономерностей ВГС для генотипов и сред, имеющих методологическое значение для оптимизации селекционного процесса. Основными закономерностями ВГС для генотипов являются следующие положения:

- среднее значение признака и его средовая чувствительность относительно независимы и могут сочетаться в одном генотипе в различных комбинациях;
- генотип может быть стабильным по одному признаку и нестабильным по другому;
- стабильность по продуктивности может быть связана с нестабильностью по другим признакам;
- в ранних поколениях происходит расщепление не только по среднему значению признака, но и по экологической стабильности;
- гетерозисное состояние организма не всегда обеспечивает стабильность, а стабильность не всегда связана с гетерозисом.

Установлены также основные закономерности ВГС для сред.

- Среда канализирует изменчивость по продуктивности и стабильности. В средних по продуктивности средах сохраняется изменчивость генотипов по норме реакции и максимальная эффективность отбора на общую адаптивную способность. Отбор в богатых или бедных средах может привести к потере экологической стабильности и выделению узкоприспособленных генотипов.
- Последовательность прохождения генотипов через среды испытания сильно влияет на эффективность селекции.
- Среда «*in vitro*» может канализировать изменчивость в нежелательном направлении.
- Отсутствует универсальная среда для испытания генотипов разных видов по комплексу признаков.
- Желательно применение 2–3 сред для анализа экологической стабильности в ранних поколениях.
- Для контроля основных параметров сред (типичность, дифференцирующая и предсказующая способность), а также реализации принципа экологической целенаправленности на конечную совокупность сред целесообразно использовать сорта-тестеры, ранее испытанные в Госсортосети.

Выявленные закономерности являются методической основой экологической организации селекционного процесса как средства повышения эффективности селекции.

Экологическая организация селекционного процесса должна, по нашему мнению, быть основана на следующих принципах.

1. Создание идиотипа – модели сорта на основе средовых и агротехнических условий будущей экониши (регион с конкретными почвенными и климатическими условиями; преобладающие вредители; патогены и сорняки; полезная биота; тип агротехники, уровень энерговклада). Определение генетической структуры сорта (уровень гетерозиготности и гетерогенности), типов его взаимодействия с другими видами агробиоценоза (как полезными, так и вредными).
2. Выбор в генколлекции исходного материала, соответствующего поставленным задачам. Создание генетической изменчивости (гибридизация, мутагенез, трансгенез).
3. Оценка продуктивности и экологической стабильности генотипов в селектируемой популяции на различных этапах селекционного процесса, анализ взаимодействия генотипов с абиотическими, биотическими и антропическими факторами.
4. Создание единой стратегии сред на всех этапах селекции с ориентацией на конеч-

ные условия (эконишу сорта); оценка параметров фона (типичность, дифференцирующая и предсказующая способность) на каждом этапе; реализация принципа экологической целенаправленности.

5. Оптимизация малого и большого информационных каналов, устранение помех, связанных со взаимодействием «генотип × среда», использование единых сортов – индикаторов среды во всех совокупностях сред для оценки их типичности, коррекция интенсивности отбора в зависимости от типичности среды.
6. Использование механизмов естественного отбора в прямой (элиминация неприспособленных генотипов) и косвенной (смена рангов генотипов в популяции) форме, совпадение действия естественного и искусственного отбора.
7. Поддержание адаптивного потенциала сорта в процессе семеноводства в результате правильного выбора условий репродуцирования и сохранения оптимальной структуры сортовой популяции.

Таким образом, создание сорта как основы высокопродуктивного и устойчивого агробиоценоза предполагает обязательную оценку реакции генотипов сорта на абиотические, биотические и антропические факторы и отбор высокопродуктивных и экологически стабильных сортов, обеспечивающих получение экологически безопасной продукции при использовании природоохранных технологий.

Литература

Кадыров М.А. Принципы и методы оптимизации селекционного процесса самоопыляющихся культур (на примере *Hordeum sativum* L.): Автореф. дис. … д-ра с.-х. наук. Жодино, 1991. 30 с.

Кильчевский А.В. Комплексный подход к оценке среды как фона отбора в селекционном процессе // Докл. АН БССР. 1986. Т. 30, № 9. С. 846–849.

Кильчевский А.В. Взаимодействие генотипа и среды в селекции растений (на примере овощных культур и картофеля): Дис. ... д-ра биол. наук. Горки, 1993. 424 с.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды. Сообщение 1. Обоснование метода // Генетика. 1985. Т. 21, № 9. С. 1481–1490.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Генотип и среда в селекции растений. Минск: Наука и техника, 1989. 191 с.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск: Тэхналогія, 1997. 372 с.

Одум Ю. Экология: В 2-х т. М.: Мир, 1986. 436 с.

Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции (теория стабилизирующего отбора). М.: Наука, 1968. 451 с.

Шмальгаузен И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса: Изб. труды. М.: Наука, 1983. 360 с.

Ceccarelly S. Wide adaptation. How wide? // Euphytica. 1989. V. 40. P. 197–205.

Ceccarelly S. Specific adaptation and breeding for marginal conditions // Euphytica. 1994. V. 77, N 3. P. 205–219.

Eberhart S.U., Russell W.A. Stability parameters for comparing varieties // Crop Sci. 1966. V. 6, N 1.

Lin C.S., Binns M.R. A superiority measure of cultivar performance for cultivar-location data // Canad. J. Plant. Sci. 1988. V. 68, N 1. P. 193–198.

Lin C.S., Binns M.R. Genetic properties of four types of stability parameter // Theor. Appl. Genet. 1991. V. 82, N 4. P. 505–509.

Wricke G. Uber line methode zur Erfassung der okologischen Stren. Breite in feldversuchen // Z. Pflanzenzuchtung. 1962. Bd. 47, N 1. S. 92–96.

Genetic and ecological bases of plant breeding

A.V. Kilchevsky

Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: A.Kilchevsky@igc.bas-net.by

Summary

Relationship between environmental factors, trends and tasks of plant breeding is considered. Conceptual models of plant varieties corresponding to the level of energy input to technology of variety growing are discussed. The conception of small and large information channels in plant breeding is proposed for increasing the efficiency of selection. Analysis of basic patterns in genotype x environment interaction is made. Principles and approaches to ecological organization of plant breeding are discussed.

РАЗРАБОТКА НА ОСНОВЕ МЕЛАНИНА СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОБЛУЧЕНИЯ

И.Б. Моссэ[1], Л.П. Жаворонков[2], В.П. Молофей[1], О.С. Изместьева[2], В.М. Посадская[2], В.И. Изместьев[2]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: I.Mosse@igc.bas-net.by; [2] Медицинский радиологический научный центр РАМН, 249020, Обнинск, Россия, e-mail: leonid.petrovich@inbox.ru

Ранее мы показали, что меланин способен снижать мутагенное действие хронического облучения, причем его радиозащитная эффективность при хроническом облучении еще выше, чем при остром. Известно, что меланин является очень активным акцептором и донором электронов и обладает высокой антирадикальной активностью. Поэтому чем ниже мощность дозы, тем выше возможность для меланина осуществлять свое протекторное действие. Для того чтобы проверить влияние меланина на мутагенное действие малых доз радиации, мы использовали явление радиоадаптивного ответа. При введении меланина за 2 часа до адаптирующей дозы адаптивный ответ не проявлялся. Если же меланин вводили между адаптирующей и повреждающей дозами, то наблюдался и защитный эффект меланина, и радиоадаптивная реакция, в результате чего частота мутаций снижалась практически до контрольного уровня. Таким образом, выявлена способность меланина полностью предотвращать повреждающее действие малых доз ионизирующей радиации. Показано также, что ежедневное пероральное введение меланина в дозе 10 мг/кг веса беременным самкам крыс устраняло функциональный дефицит физического и психоэмоционального развития, выявляемый у потомства при антенатальном γ-облучении. На основании полученных данных делается заключение о радиопротекторном действии меланина в отношении цитогенетических и эмбриотоксических эффектов малых доз ионизирующей радиации.

Введение

Загрязнение биосферы радионуклидами, а также непрерывное расширение применения ионизирующих излучений в различных областях науки и техники, сельского хозяйства и медицины делают неизбежным облучение значительных групп людей. В связи с развитием космических исследований возникла опасность облучения космонавтов космическими лучами.

Повышение уровня радиоактивного фона в районах, пострадавших от загрязнения радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС, привело к реальной необходимости широкого использования в повседневной жизни радиопротекторов.

В результате полувекового опыта поиска средств химической защиты от поражающего действия ионизирующей радиации синтезированы многие тысячи препаратов, защищающих организм от острого лучевого поражения (Кудряшов, 1997). Однако из огромного числа радиопротекторов пригодными для человека оказались лишь несколько препаратов, снижающих эффекты от облучения в высоких дозах и, как правило, неэффективных при низкоинтенсивном воздействии.

Реальная ситуация, сложившаяся в радиационно неблагоприятных районах, требует разработки новых путей химической защиты от радиации низкой интенсивности. Доказано, что малые дозы радиации, не оказывающие заметного физиологического влияния на организм, повышают частоту генетических нарушений (мутаций) в облученных клетках. Традиционные препараты, обладающие кратковременным действием и высокой токсично-

стью, оказываются непригодными при хроническом облучении (Кудряшов, 1997, 1998).

Кроме того, роль естественного отбора в современном человеческом обществе резко снижена, поэтому возрастание уровня мутаций, вызываемое длительным облучением, приводит к «отягощённости» популяций человека «генетическим грузом». В то же время при использовании наиболее эффективных радиопротекторов с целью уменьшения мутагенного действия облучения было показано, что они либо вовсе не способны защищать наследственные структуры, либо оказываются менее эффективными, чем при защите от лучевой гибели. Ни один из традиционных радиопротекторов не способен уменьшать частоту мутаций, накапливающихся в виде «генетического груза» в популяциях, и не эффективен при хроническом действии ионизирующей радиации. Все это свидетельствует о необходимости поиска иных путей защиты наследственности от мутагенных эффектов облучения (особенно хронического).

Несмотря на особую сложность этой проблемы, нами были получены обнадеживающие результаты, приведшие впоследствии к разработке генопротектора нового типа, способного защищать не только от острого, но и от хронического облучения (Mosse *et al.*, 1999). Такими уникальными способностями, как оказалось, обладает пигмент меланин, созданный самой природой для защиты от ультрафиолетового облучения.

Меланин не токсичен, содержится в тканях микроорганизмов, растений, животных и человека (придает окраску волосам, ресницам, радужной оболочке глаза, коже), в ряде пищевых продуктов (чае, кофе, какао, шоколаде, грибах, черном винограде, красном вине и т. д.). Поскольку меланин защищает организм от ультрафиолетового облучения, он образуется в клетках кожи человека под воздействием солнечных лучей, создавая «загар». В мировой литературе были некоторые сведения о способности этого пигмента уменьшать летальное действие ионизирующей радиации, но влияние меланина на генетические эффекты облучения изучено нами впервые.

Были проведены исследования на разных биологических объектах – животных (дрозофила, мыши, крысы) и культивируемых клетках человека. Показано, что пигмент меланин обладает высокой генопротекторной активностью при остром воздействии ионизирующей радиации в широком интервале доз. При этом было установлено, что меланин эффективно снижает частоту индуцированных ионизирующей радиацией мутаций как в соматических, так и в зародышевых клетках (Mosse *et al.*, 2002).

Уникальной является способность меланина уменьшать почти до контрольного уровня частоту генетических повреждений, передающихся из поколения в поколение и накапливающихся в популяциях в виде «генетического груза» (Mosse, Lyach, 1994). Впервые показана принципиальная возможность эффективной защиты популяций животных при облучении в течение многих поколений с помощью меланина (на дрозофиле исследовано 150 поколений, на мышах 5) (Моссэ, 1996).

Интересно, что радиозащитная эффективность меланина оказалась более высокой при хроническом облучении, чем при остром (Mosse *et al.*, 1999). Известно, что меланин является очень активным акцептором и донором электронов и обладает высокой антирадикальной активностью. Поэтому чем ниже мощность дозы или меньше доза облучения, тем выше возможность для меланина осуществлять свое протекторное действие (Grossi *et al.*, 1998).

Обнаружение высокой эффективности меланина в защите от малых доз радиации и в уменьшении генетических последствий хронического облучения свидетельствует о перспективности использования меланина для защиты населения, проживающего в районах с повышенным радиационным фоном.

Для того чтобы проверить влияние меланина на мутагенное действие малых доз радиации, повреждающее действие которых в эксперименте не обнаруживается, мы использовали радиоадаптивный ответ.

Вместе с тем до сих пор не было создано и не известны попытки поиска приемлемых средств, способных реально ослабить эффекты внутриутробного низкоинтенсивного облучения и тем самым ограничить тератогенное действие радиационного загрязнения внешней среды (Гончаренко и др., 1997). Представляло интерес оценить возможность радиозащитного действия экзогенного меланина у животных, облученных в антенатальном периоде.

Изучение с помощью радиоадаптивного ответа влияния меланина на цитогенетические эффекты малых доз ионизирующей радиации

Материал и методика

Опыты проводились на белых мышах линии Af. Животные подвергались рентгеновскому облучению с мощностью дозы 5,57 сГр/мин. Величина дозы составляла 1,7 Гр. В вариантах с адаптивным ответом облучение проводилось сначала в адаптирующей дозе 0,2 Гр, а спустя 4 часа в выявляющей дозе 1,5 Гр. Меланин в концентрации 3 мг/кг вводился внутрибрюшинно за два часа до облучения в повреждающей дозе. Забой мышей производился спустя сутки после облучения в повреждающей дозе. Проводили цитогенетический анализ частоты реципрокных транслокаций в половых клетках и выхода хромосомных аберраций в клетках костного мозга стандартными методами. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием параметрического t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При исследовании влияния меланина на адаптивный ответ показано, что внутрибрюшинные инъекции меланина при однократном облучении 1,7 Гр снижают выход хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей в 1,5–2 раза и выход реципрокных транслокаций в сперматоцитах мышей – в 2 раза (табл. 1, рис.).

При сравнении генетической эффективности однократного воздействия в дозе 1,7 Гр и фракционированного (0,2 Гр + 1,5 Гр) был обнаружен адаптивный ответ как в соматических, так и в половых клетках – частота мутаций при дроблении дозы была ниже, чем при остром облучении в суммарной дозе.

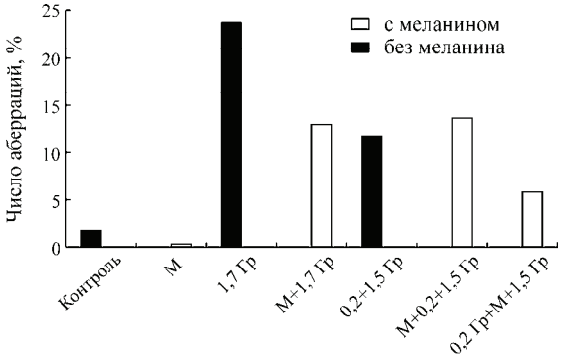

Рис. Влияние меланина на адаптивный ответ в клетках костного мозга мышей (М – меланин).

Введение меланина за 2 часа до облучения оказывало одинаковый эффект как при однократном, так и при фракционированном облучении в обоих видах клеток. Было неясно, то ли меланин не снижает мутагенное действие фракционированного облучения, то ли в условиях защиты меланином адаптивный ответ не проявляется.

Чтобы выяснить причину наблюдаемых явлений, мы исследовали влияние меланина, введенного после адаптирующей дозы, за 2 часа до воздействия в основной дозе 1,5 Гр. В этом случае частота мутаций оказалась существенно ниже, чем в предыдущих вариантах (табл. 1, рис.), что можно объяснить суммированием эффектов адаптивного ответа и протекторного действия меланина. В половых клетках в варианте «0,2 Гр + меланин + 1,5 Гр» частота мутаций снизилась почти до спонтанного уровня. Из полученных данных можно сделать вывод, что меланин, введенный перед адаптирующей дозой,

Таблица 1

Влияние меланина на адаптивный ответ в половых клетках (сперматоцитах) мышей

Варианты воздействия	Количество мышей	Количество клеток	Аберрации, %
1,7 Гр	10	1872	1,44 ± 0,26
0,2 Гр + 1,5 Гр	8	1331	0,83 ± 0,25
М + 1,7 Гр	10	1587	0,63 ± 0,20
М + 0,2 Гр + 1,5 Гр	6	947	0,63 ± 0,26
0,2 Гр + М + 1,5 Гр	8	445	0,45 ± 0,32

М – меланин.

полностью снимает её эффект и поэтому реакция адаптивного ответа не проявляется.

Известно, что адаптивный ответ связан со стимуляцией репарационных процессов в клетке малой (адаптирующей) дозой. При этом действие повреждающей дозы приходится на состояние повышенной радиорезистентности клетки. Выступая в роли буфера, меланин снимает действие малой дозы радиации, предотвращая адаптивный ответ.

Таким образом, показано, что меланин способен полностью устранять биологическое действие малых доз ионизирующей радиации (в частности 0,2 Гр).

Экспериментальная оценка противолучевых свойств меланина при антенатальном облучении

Материалы и методы

Опыты поставлены на крысах линии Вистар. 100 половозрелых самок (возраст 3,5 мес., масса тела 230 ± 10 г) после верификации у них беременности по общепринятой методике (Конописцев, 1975) подвергали хроническому внешнему γ-облучению на установке «Эксперимент» (Россия): источник γ-излучения ГСS 7,012 с изотопом цезия – 137, энергия 0,661 МЭВ и активностью $5{,}2 \times 10^{11}$ Бк. Дозиметрические исследования и доверительную границу погрешности величины дозы определяли непосредственно в каждой клетке, куда на время облучения размещали животных. Мощность поглощенной дозы в прямом пучке составила 2,6 ± 0,2 мГр/ч при 0,06 ± 0,005 мГр/ч в зоне минимальных значений (ложное облучение). Облучение или ложное облучение проводили круглосуточно в течение всего срока беременности (20 суток) с ежедневным перерывом на 30 мин для кормления животных и введения им препарата. Суммарная поглощенная доза в группе облучения составила ≈ 1,25 Гр, а у ложного облучения (контроль) – 0,03 Гр. В течение всего эксперимента животных содержали в стандартных пластиковых клетках в условиях климатического комфорта (t = 22 °С, влажность воздуха 50 %). Меланин в виде суспензии на крахмальном геле вводили ежедневно из расчета 10 мг/кг внутрижелудочно, а контролю в качестве плацебо – 1 % крахмальный гель. С учетом правил рандомизации были сформированы 4 экспериментальные группы крыс: ложное облучение; ложное облучение + меланин; γ-облучение; γ-облучение + меланин.

В данной работе представлены результаты комплексного исследования, позволяющие оценить течение и исход беременности, а также развитие потомства в пострадиационном периоде. С этой целью в конце беременности (на 21-е сутки) каждую подопытную группу животных методом случайного выбора разделяли на две подгруппы. Под нембуталовым наркозом (55 мг/кг внутриперитонеально) у части самок производили подсчет числа живых плодов и количества желтых тел в обоих яичниках. По разнице между этими показателями судили об уровне внутриутробной гибели. У остальных животных каждой группы оценивали прибавку массы тела за беременность, а также после родов – внепометные потери массы тела. На первые сутки после родов регистрировали число живых крысят по каждому помету всех экспериментальных групп. В последующем вели систематическое наблюдение за крысятами (240 особей), регистрируя ряд показателей, характеризующих соматическое развитие – динамику массы тела, параметры раннего онтогенеза – сроки покрытия шерстью, прорезывания зубов и прозревания. Для характеристики адаптивных возможностей организма использовали интегральный тест выносливости к физической динамической нагрузке по длительности принудительного бега в третбане в возрасте 40 дней.

В ювенильном возрастном периоде (40 дней), отличающемся максимальной двигательной активностью, у всех крысят оценивали психоэмоциональный статус по тесту спонтанной двигательной активности (СДА) в «открытом поле». При этом фиксировали время до начала проявления ориентировочно-исследовательской реакции (ОИР) при помещении животных в центр ярко освещенного поля размером 1,0 × 1,0 (лаг-фаза), количество стоек и число освоенных квадратов как центральной (4 квадрата), так и периферической (12 квадратов) зон.

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием параметрического t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что изолированное действие γ-облучения в указанной дозе, меланина и их сочетанное применение не оказывает влияния на течение и исход беременности по всем изученным параметрам: приросту массы тела за беременность, потери массы в родах, количеству желтых тел яичников и плодов, количеству крысят в помете.

Анализ соматического развития крысят в пострадиационном периоде, оцениваемого по динамике набора массы тела, также не выявил существенных отклонений от физиологической нормы. Так, за первые 14 дней по всем четырем экспериментальным группам отмечена синхронность в наборе массы тела животных. Более того, в первые трое суток раннего онтогенеза, когда происходит адаптация организма к новым условиям существования, нами не зарегистрировано случаев гибели животных. По срокам покрытия шерстью, прорезывания зубов и прозревания развитие крысят подопытных групп не отличалось от контрольной.

На 21-е сутки отмечена тенденция к превышению массы тела у крысят, подвергнутых сочетанному действию γ-облучения и меланина. Выявленные изменения носили транзиторный характер, и в остальные сроки наблюдения животные этой группы не отличались от контроля. Особого внимания заслуживает группа крысят-самок, антенатально получавших меланин, у которых отмечалось более ускоренное развитие, оцениваемое по приросту массы тела, в результате чего утроение массы тела происходило к двум месяцам жизни, тогда как у контрольных животных этот же результат достигался примерно к трем месяцам. Феномен ускоренного роста может быть объяснен тем фактом, что меланин способен влиять на обмен веществ, гормональную регуляцию, а также клеточную дифференцировку и, как следствие, оказывать влияние на рост и жизнеспособность животных (Моссэ, 1990).

Эмбриопротекторные свойства меланина оценивали и по физической работоспособности животных. Выносливость к физической нагрузке является тестом, интегрально характеризующим состояние ведущих функциональных систем организма, обеспечивающих нервно-мышечную и вегетососудистую регуляцию, а также биохимические механизмы мышечной работы. В опытах на 98 животных установлено, что изолированное γ-облучение в суммарной дозе 1,25 Гр снижает среднюю по группе продолжительность бега. Изолированное действие меланина как и его сочетание с γ-облучением, статистически значимо увеличивает среднюю продолжительность бега животных (табл. 2). При этом происходит и существенное снижение доли крыс с выраженной физической астенией (бег менее 8 мин).

Таблица 2

Основные показатели принудительного бега крыс-самок в возрасте 40 дней, облученных в антенатальном периоде γ-квантами (1,25 Гр за 20 дней беременности) на фоне экзогенного меланина

Группы (по 25–30 животных)	Средняя по группе продолжительность бега (мин)	Доля крыс с физической астенией, %
Ложное облучение	13,1 ± 1,7	45
γ-облучение	8,4 ± 1,2*	60
Меланин	17,5 ± 1,9*	23,3**
Меланин + γ-обл.	17,4 ± 1,8**	28,6**

* Достоверные различия при сравнении с ложным облучением ($p < 0,05$); ** достоверные различия при сравнении с γ-облучением ($p < 0,05$).

Результаты оценки психоэмоционального состояния животных показали, что антенатальное воздействие как изолированного γ-облучения, так и на фоне меланина не приводило к существенному сдвигу в параметрах СДА самок Вистар при тестировании в возрасте 40 дней. У самцов в этом же возрастном периоде зарегистрировано повышение СДА в группах «меланин», а также «меланин + γ-облучение». Это выражается в достоверном по сравнению с контролем и γ-облучением увеличении числа стоек и числа пересечений границ квадратов, причем эти животные активно осваивают как периферическую, так и центральную зоны (табл. 3), что может свидетельствовать об антифобических наклонностях у этих животных. Количество стереотипий и актов дефекаций по всем экспериментальным группам не изменилось.

Таблица 3

Основные показатели спонтанной двигательной активности крысят-самцов в возрасте 40 дней после хронического γ-облучения (1,25 Гр за 20 дней *in utero*) на фоне экзогенного меланина

Группы	N	Количество вставаний	Заходы в углы	Число пересечений квадратов периферической зоны
Ложное облучение	28	14,3 ± 2,0	20,0 ± 2,3	57,7 ± 6,7
γ-облучение	28	12,6 ± 2,3	15,9 ± 2,5	45,4 ± 7,8
Меланин	30	20,9 ± 2,9	23,9 ± 2,2	71,3 ± 7,0
Меланин + γ-облучение	30	19,4 ± 2,5**	22,6 ± 2,2**	66,7 ± 6,7**

N – количество животных в группах; ** достоверные различия при сравнении с γ-облучением.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами выявлено определенное радиоэмбриопротекторное действие меланина в отношении эмбриотоксических эффектов малых доз ионизирующей радиации.

При антенатальном облучении животных в дозе 1,0 ÷ 1,25 Гр за весь период ежедневное пероральное введение меланина в дозе 10 мг/кг беременным самкам устраняло функциональный дефицит, выявленный у облученного потомства в постнатальном периоде, по выносливости к физической нагрузке и психоэмоциональной устойчивости животных.

Заключение

Исследовано влияние меланина на мутагенное действие малых доз радиации с помощью феномена радиоадаптивного ответа. При введении меланина за 2 часа до адаптирующей дозы адаптивный ответ не проявлялся. Если же меланин вводили между адаптирующей и повреждающей дозами, то наблюдался и защитный эффект меланина, и радиоадаптивная реакция, в результате чего частота мутаций снижалась практически до контрольного уровня. Показано также, что ежедневное пероральное введение меланина в дозе 10 мг/кг веса беременным самкам крыс устраняло функциональный дефицит физического и психоэмоционального развития, выявляемый у потомства при антенатальном γ-облучении в дозе 1,00–1,25 Гр за весь период беременности. На основании полученных данных делается заключение о радиопротекторном действии меланина в отношении цитогенетических и эмбриотоксических эффектов малых доз ионизирующей радиации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РБФФИ–РГНФ в рамках научно-исследовательского проекта «Разработка средств профилактики генетических и онтогенетических последствий острого и хронического облучения» № ГО5Р-016 (2005–2006 гг.).

Литература

Гончаренко Е.Н., Деев Л.И., Кудряшов Ю.Б. и др. Использование препарата природного происхождения для ослабления биологических эффектов в условиях радиоактивного загрязнения и в радиобиологическом эксперименте // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. Вып. 4. С. 676–682.

Конописцев Л.А. Датирование сроков беременности у крыс и влияние яйцеклеток на количество живых плодов // Онтогенез. 1975. Т. 6. Вып. 4. С. 411–413.

Кудряшов Ю.Б. О химической защите от ионизирующей радиации низкой интенсивности // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. Вып. 4. С. 673–675.

Кудряшов Ю.Б. Современные проблемы и перспективы противолучевой химической защиты организмов и биосистем // Тез. докл. Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы противолучевой защиты». Москва, 1998. С. 5.

Моссэ И.Б. Радиация и наследственность: Генетические аспекты противорадиационной защиты. Минск: Университетское изд-во, 1990. 208 с.

Grossi G.F., Durante M., Gvalanella G., Pugliese M., Mosse I. Effects of melanin on high-LET radiation response of human epithelial cells // Radiation and Environmental Biophysics. 1998. V. 37. P. 63–67.

Mosse I.B., Lyach I.P. Influence of melanin on mutation load in Drosophila population after long-term irradiation // Radiation Res. 1994. V. 139, N 3. P. 356–358.

Mosse I., Plotnikova S., Kostrova L., Dubovic V., Molophei V. Melanin influence on chronic and fractionated irradiation in germ and somatic cells of mice / Hungarian J. of Animal Production. 1999. V. 48, N 1. P. 145–148.

Mosse I., Dubovic B., Plotnikova S. *et al.* Melanin is effective radioprotector against chronic irradiation and low radiation doses // IRPA. Regional Congress on Radiation Protection in Central Europe. Radiation Protection and Health, Proceedings. Dubrovnik, Croatia, May 20–25, 2001. ISBN 2002. 30-06 P. 1–6.

Working out the mean of prophylaxis with melanin of genetic and ontogenetic after-effects of irradiation

I.B. Mosse[1], L.P. Zhavoronkov[2], V.P. Molofei[1], O.S. Izмestieva[2], V.M. Posadskaya[2], V.I. Izмestiev[2]

[1] Institute Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus, e-mail: I.Mosse@igc.bas-net.by
[2] Medical Radiological Research Centre of Russian Academy of Medical Sciences, 249020, Obninsk, Russia, e-mail: leonid.petrovich@inbox.ru

Summary

Earlier we have shown that melanin is able to reduce mutagenic action of chronic irradiation and its radioprotective efficiency is even higher under chronic irradiation than under acute one. Melanin is known to be a very active acceptor and donor of electrons and exhibits high antiradical activity, therefore the lower the dose or dosage rate, the higher the possibility for melanin to realize its protector effect. On order to test the melanin effect on a mutagenic action of low radiation doses, we have used a radioadaptive response phenomenon. No adaptive response was observed by administrating melanin 2 hours before the adapting dose. If melanin was administrated between the adapting and damaging doses, both the protective effect of melanin and the radioadaptive response were observed, as a result of which the mutation frequency was reduced practically to the control level. It means that melanin is able to remove completely biological effect of low radiation doses. Daily peroral melanin administration at a dose of 10 mg/kg weight to pregnant rat females was shown to eliminate functional deficiency of physical and psychoemotional development revealed in the offspring under antenatal γ-irradiation at a dose of 1.00-1.25 Gy over gestation. Based on the data obtained, it is concluded about melanin radioprotector action with respect to cytogenetic and embryotoxic effects of ionizing radiation low doses.

АДАПТИВНЫЕ МОДИФИКАЦИИ И ЕСТЕСТВЕННЫЙ ОТБОР (ЭВОЛЮЦИОННО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ НАСЛЕДИЕ Е.И. ЛУКИНА)

Я.М. Галл

Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники РАН;
Ленинградский государственный университет им. А.С. Пушкина, г. Пушкин

Ефим Иудович Лукин (1904–1999) хорошо известен зоологам многих специальностей благодаря фундаментальным исследованиям в области систематики, гидробиологии, филогенетики и экологии. На протяжении всей жизни Е.И. Лукин разрабатывал теорию эволюции в самых различных ее аспектах и практически на всех уровнях протекания самого процесса эволюции, от возникновения мутаций и модификаций, факторов, воздействующих на структуру популяций, вида и видообразования, и до происхождения высших таксонов. Все научные исследования Е.И. Лукин выполнил в г. Харькове, который в советское время быстро стал крупнейшим научным и техническим центром страны.

Данная статья не преследует цель дать последовательное изложение взглядов Е.И. Лукина в области исследования теории естественного отбора, вида и природы внутривидовых категорий, хотя эти темы тесно взаимосвязаны в многогранном творчестве крупнейшего биолога-эволюциониста. Изучение данной тематики, доминировавшей в трудах Лукина 1930-х гг., завершилось публикацией классической монографии по географической изменчивости в 1940 г. и позднее было продолжено (Лукін, 1935, 1936, 1939а, б; Лукин, 1940, 1942). Последовательная историческая работа о творчестве Е.И. Лукина в области теории эволюции – это, скорее, дело будущего. Здесь хотелось бы лишь отметить некоторые дискуссионные моменты в истории науки, которые по истечении «срока давности» видятся несколько в ином свете, чем в «горячий» период публикаций и дискуссий.

Оригинальный вклад Лукина в теорию естественного отбора продиктован, по нашему мнению, двумя важнейшими причинами. В 1920–1930-е гг. в СССР постоянно вспыхивали острые дискуссии между генетиками и ламаркистами по проблеме наследования приобретенных признаков (см.: Gaissinovitch, 1980). Эти дебаты часто выходили за рамки научных дискуссий и приобретали острый идеологический характер (Колчинский, 1999), а после августовской сессии ВАСХНИЛ 1948 г. началось массовое гонение на генетиков и биологов-эволюционистов, опиравшихся на генетику или хотя бы в малейшей степени использовавших ее достижения.

Е.И. Лукин всегда защищал генетику, использовал генетические концепции в эволюционных построениях и развивал теорию эволюции именно в самом сложном измерении по отношению к упомянутым дискуссиям. Сейчас можно сказать, что он пытался синтезировать блестящие идеи Ч. Дарвина и Ламарка, которые до работ Лукина всегда трактовались как антитезы[1]. Сам же Лукин полагал, что его рабо-

[1] Дж. Симпсон провел параллели между его исследованиями роли «приобретенных признаков» в эволюции в трудах Болдуина, Осборна и Л. Моргана 1896–1900 гг. и исследованиями советских биологов-эволюционистов 1940-х гг. (публикации на английском языке В.С. Кирпичникова, Г.Ф. Гаузе, И.И. Шмальгаузена 1947 г. и 1949 г.) (Simpson, 1953). Ранние исследования он оценил как попытку разрешить дилемму между неодарвинизмом и неоламаркизмом, а советские работы как компромисс между генетикой и мичуринской биологией. Правда, Симпсон отметил, что первыми работами, по-видимому, были публикации Лукина около 1936 г., но он с ними не знаком, так как они публиковались на украинском и русском языках. Думается, что в любом случае допущена историческая ошибка. Работы Лукина, Кирпичникова и Шмальгаузена появились значительно раньше, и если их рассматривать в контексте социальной истории науки, то они, скорее, были порождены особенностями дискуссий, которые велись в 1920–1930-е гг., т. е. до возникновения мичуринской биологии. В этих дискуссиях участвовали «ламаркисты», не имевшие ничего общего с лысенковским мракобесием, например, Е.С. Смирнов, Ю.М. Вермель, В.С. Кузин.

ты лишь развивают дарвиновскую теорию отбора и позволяют лучше понять ее эволюционную роль на конкретном и очень обширном натуралистическом материале. На материале, полученном, прежде всего, при изучении географической и экологической изменчивости вида, где и после возникновения генетики как науки широко господствовал ламаркизм. Е.И. Лукин боролся за дарвинизм и не претендовал на открытие каких-либо особых форм естественного отбора, как это делали его соотечественники, которых также обычно относят к пионерам в этой области исследования (стабилизирующий отбор по И.И. Шмальгаузену или косвенный отбор по В.С. Кирпичникову).

Речь идет о серии исследований Е.И. Лукина, которые им самим были обозначены следующим образом: о роли адаптивных модификаций и наследственных изменений в эволюции. Практически во всех дискуссиях этот вопрос был в центре внимания, и именно по нему проходил водораздел между генетиками–дарвинистами и ламаркистами. Генетики в этот период уже воспевали Ч. Дарвина и видели свою задачу в развитии генетических основ его учения (Никоро, 2005). Они четко придерживались мнения, что ненаследственные изменения не передаются по наследству и, таким образом, не имеют эволюционного значения. В дальнейшем выяснилось, что из правильной посылки был сделан ошибочный вывод. Ламаркисты также воспевали Ч. Дарвина, но генетика им была не нужна, так как для них вполне достаточными были законы наследования по Ламарку. В эволюционных построениях Е.И. Лукина удалось совместить представления о мутациях и адаптивных модификациях как важнейших факторах эволюции, и это не только не противоречило теории естественного отбора, а напротив, расширяло ее возможности и круг объясняемых явлений.

Важнейшей причиной, побудившей Е.И. Лукина к созданию новых эволюционных построений, явились его собственные исследования по изучению географической и других форм внутривидовой изменчивости у насекомых. Возможно, что обе причины взаимосвязаны, но именно широкий натурализм, присущий всему творчеству Лукина, позволил ему создать законченные представления о роли адаптивных модификаций в эволюции. Концепция Лукина в отличие от других близких по содержанию теоретических построений была сформулирована в такой натуралистической манере, что оказалась способной организовать будущие экспериментальные исследования[2].

При первой нашей встрече в марте 1970 г. Г.Ф. Гаузе прямо сказал мне: «В своих экспериментальных исследованиях по изучению роли адаптивных модификаций в эволюции я исходил из концепции Лукина, так как она оказалась наиболее удобной для такого сорта работ». Хорошо помню, что фамилия Лукина в беседе с Гаузе была названа не случайно. Осенью 1969 г. в Ленинграде проходила конференция по проблемам прогрессивной эволюции, которую организовал К.М. Завадский. Я уже знал, что Лукин – классик теории эволюции (соавтор теории стабилизирующего отбора вместе с И.И. Шмальгаузеном и В.С. Кирпичниковым), и старался на заседаниях сидеть рядом с ним.

В это время я приступил к изучению проблемы борьбы за существование как фактора эволюции в историко-научном плане. В качестве первого «героя» был избран Г.Ф. Гаузе. На одном из заседаний я задал вопрос Ефиму Иудовичу, где сейчас Гаузе, и что произошло с ним, так как он перестал публиковать работы по общей экологии и теории эволюции. Он открыл мне, что Гаузе, эколог и эволюционист, в настоящее время работает директором института по изысканию новых антибиотиков в Москве.

В первый же приезд Лукина из Харькова в ЗИН АН СССР я передал ему слова Гаузе, он был обрадован и несколько удивлен. С присущей ему незлой едкостью он сказал: «Я думал, что эти слова Гаузе говорил только мне». Но имеются веские доказательства, что оценка концепции Лукина содержится не только в их личных беседах и переписке[3].

[2] Идея о важной роли адаптивных модификаций в эволюции широко обсуждалась в литературе по генетике и теории эволюции и позволила сделать важные теоретические обобщения в виде концепций косвенного и стабилизирующего отбора (Кирпичников, 1935, 1936, 1944; Шмальгаузен, 1938, 1939, 1946).

[3] Автор искренне благодарен А.Е. Лукину – сыну Е.И. Лукина за возможность изучить переписку Е.И. Лукина и Г.Ф. Гаузе.

В итоговой монографической работе по экспериментальному изучению естественного отбора, озаглавленной «Problems of Evolution», Гаузе кратко изложил историю концепции органического отбора, получившей позднее в трудах зарубежных биологов-эволюционистов название «эффект Болдуина» (Дж. Болдуин, Г. Осборн, Л. Морган). Переломным годом в данной области исследования назван 1936 г. При оценке статьи Лукина Гаузе не ограничился ее упоминанием, а указал на ключевые моменты, которые были использованы в ходе экспериментальных исследований. Целесообразно привести это по оригиналу:

«Для истории человеческой мысли примечательно, что принцип органического отбора был независимо открыт в России около 1936 г. В этом году доктор Лукин опубликовал важную теоретическую статью под названием «Про причини заміни в процесі органичноі еволюціі неспадкових змін спадковими з погляду теоріі природного добору». В этой работе автор рассмотрел параллелизм между фенотипической и генотипической изменчивостью и пришел к следующим выводам: 1) организмы часто отвечают на средовые изменения путем адаптивных фенотипических модификаций; 2) у географических рас, живущих в соответствующих средах, подобные адаптивные признаки могут быть закреплены генотипически; 3) доказано, что превращение модификаций в мутации невозможно; 4) следовательно, модификации могут лишь *замещаться* (*substituted*) (*курсив Г.Ф. Гаузе*) совпадающими мутациями, но при условии, если последние связаны с некоторыми преимуществами в процессе естественного отбора».

Вполне очевидно, что Е.И. Лукин заново открыл принцип органического отбора, который ему не был известен и которым все пренебрегали в период написания его работы. В монографии «Дарвинизм и географические закономерности в изменении организмов», опубликованной в Москве на русском языке в 1940 г., Е.И. Лукин дал глубочайший теоретический анализ предполагаемого преимущества генотипической адаптации перед фенотипической адаптацией. Он полагал, что это преимущество может быть ответственно за процесс замещения модификаций мутациями. *Генотипическая специализация может быть предпочтительнее фенотипической пластичности в тех случаях, когда она более эффективна, как, например, когда желательно более раннее проявление адаптивного признака в онтогенезе*» (*курсив Я. М. Галл*) (Gause, 1947, P. 22). Гаузе очень четко «извлек» из статьи Лукина 1936 г. все основные положения, а последнее положение, выделенное мной курсивом, вошло в одно из основных обобщений Г.Ф. Гаузе и В.В. Алпатова об обратной зависимости между приобретенными и врожденными признаками, впервые опубликованное в 1941 г. Это правило отражает зависимость между удельным весом адаптивных модификаций и наследственной резистентностью к различным экологическим факторам при адаптации (см. Галл, 1997).

Если просто просмотреть огромную серию экспериментальных работ Г.Ф. Гаузе, часть из которых была выполнена совместно с В.В. Алпатовым и Н.П. Смарагдовой, то становится вполне очевидным, что экспериментальная работа велась в русле теоретических положений Е.И. Лукина (Gause, 1947; Гаузе, 1984; Галл, 1997). Статья Е.И. Лукина 1936 г. действительно стимулировала экспериментальные исследования, и в этом ее преимущество перед другими аналогичными гипотезами. Вполне естественно, что она может стимулировать и современные исследования на стыке широкого натурализма и генетики, включая и молекулярную генетику. Но это требует основательной подготовки в зоологии, ботанике, общей физиологии растений и животных, чего как раз и не хватает многим современным специалистам в области эволюционной биологии, которых, прежде всего, интересуют «новинки» молекулярной биологии.

Отрывок из работы Г.Ф. Гаузе ставит и крайне интересные историко-научные проблемы: действительно ли российские ученые лишь заново открывали ранние исследования Осборна, Моргана и Болдуина; только ли своевременным их появлением можно объяснить их популярность, во всяком случае, в Советском Союзе?

Л. Морган и Г. Осборн были ближе к биологам-эволюционистам, так как изучали поведение у животных и эволюционную палеонтологию (Осборн – прямой учитель Симпсона).

На Западе сторонники синтетической теории эволюции подвергли резкой критике сам «принцип Болдуина», а также работу Г.Ф. Гаузе 1947 г. (Simpson, 1953; Майр,1968). Исключением является Дж. Хаксли (Huxley, 1942), который, можно сказать, в одиночку защищал старые классические теоретические работы, и позднее – исследования К. Уоддингтона. Однако и он «впал в немилость». Критической оценке принципа Болдуина и взглядов Дж. Хаксли посвящена упомянутая специальная статья Дж. Симпсона под названием «Эффект Болдуина» (Simpson, 1953)[4]. Однако в рецензии Гаузе на книгу Хаксли 1942 г. отмечено, что Хаксли поддержал концепцию органического отбора, но в этой части он мало оригинален, так как в России исследования в данном направлении ушли далеко вперед и о них совсем не упоминается (Гаузе, 1944). Позднее Гаузе дополнил и расширил оценку взглядов Хаксли и четко высказался о причинах упадка интереса к изучению эволюционной роли модификаций. Обращает на себя внимание и тот интереснейший факт, что Гаузе полагал, что без изучения эволюционной роли модификаций невозможно было начать экспериментальную работу по естественному отбору. «В целом это направление исследований (*изучение органического отбора – Я.М. Галл*) пришло к концу: практически оно целиком игнорировалось. Причины этому явлению легко обнаружить. В период этих исследований (около 1900 г.) ситуация в биологии не была достаточно благоприятной для исследований в области органического отбора. Классификация вариаций на две фундаментально различные категории – модификации и мутации – не была популярной, и экспериментальное изучение естественного отбора вряд ли можно было начать. Даже в наши дни, как верно отметил Дж. Хаксли (1942) этот важный принцип, по-видимому, незаконно пренебрегался современными эволюционистами» (Gause, 1947, p. 22). Оценка Гаузе ранних работ важна и потому, что он совершенно иначе, чем Симпсон оценил ситуацию в науке. После того как генетика установила, что модификации не передаются по наследству, генетики двух поколений основывали свои работы лишь на теории мутаций. В этом смысле ранние работы по органическому или совпадающему отбору, по Осборну, опережали исследовательский темп. По Симпсону же вопрос о роли модификаций в эволюции отпал сам по себе с возникновением синтетической теории эволюции. Конечно, для синтетической теории эволюции, построенной в первую очередь на достижениях генетики популяций, такая постановка, по меньшей мере, неинтересна, так как возрождает неоламаркизм, который наряду с витализмом расценивался Симпсоном как «мертвая» концепция. Он главным делом жизни считал борьбу за «чистый» материализм.

Э. Майр полностью поддержал оценки Симпсона, но усилил аргументацию: все исследования по эффекту Болдуина носят типологический характер, так как оценки эффекта идут по отдельному генотипу или по экспериментальным линиям (Майр, 1968, с. 484). Здесь же дана критическая оценка работ К. Уоддингтона и его концепции «генетической ассимиляции». Все исследования Е.И. Лукина построены на изучении именно природных популяций. Э. Майр в начале карьеры был ламаркистом, а Е.И. Лукин в это время уже вел борьбу с ламаркизмом и утверждал дарвинизм в союзе с генетикой. Лукин не вел борьбу с музейными систематиками, но всю жизнь стоял на позициях концепции политипического вида.

Целесообразно кратко рассмотреть работу Болдуина 1896 г. под названием «Новый фактор эволюции», так как под его именем концепция о замене адаптивных модификаций мутациями в ходе эволюции вошла в мировую литературу, а сама статья была даже перепечатана в сборнике мировых классических работ по эволюционной генетике (Jameson, 1977). Составитель и редактор сборника поместил статью Болдуина в первой части под названием «Начало», где содержатся и статьи Ч. Дарвина, А. Уоллеса, Ф. Гальтона, Г. Менделя. Идеи Болдуина и, следовательно, соавторов гипотезы органического отбора были оценены

[4] Статья Симпсона носила столь агрессивно-наступательный характер, что представляется, такого тона испугалась редколлегия. В это время главным редактором журнала «Evolution» был палеонтолог Э. Олсон, а членами редколлегии – Б. Ренш и Е. Карсон. Вслед за статьей Симпсона была помещена статья К. Уоддингтона «Генетическая ассимиляция и наследование приобретаемых признаков» (Waddington, 1953).

по самым высоким меркам[5]. Да и редакторские комментарии полностью соответствуют положению статьи в сборнике.

Болдуин был пионером в области экспериментальной психологии и приложил много усилий к развитию эволюционной психологии, которая в наши дни получила широкое развитие.

Болдуин – автор многих книг по теории эволюции, генетике, психологии и философии. В 1902 г. вышла в свет его книга «Development and Evolution», которая использовалась как учебник. Именно в этой книге Болдуин достаточно полно развил свою концепцию органического отбора, и его новые идеи широко обсуждались в литературе. В приложении к книге Болдуин собрал много высказываний об органическом отборе, из которых следует, что концепция привлекла внимание биологов (Baldwin, 1902). Книга Болдуина прямо свидетельствует о том, что он обсуждал проблему органического отбора в аспекте Evo–Devo.

Болдуин суммировал свое исследование как имеющее под собой основание в большой проблеме: онтогенез, филогенез, наследственность. Разумеется, он был специалистом по психологии и в центре его внимания стояла проблема механизмов наследования приобретенных признаков в ходе обучения. «Послед-ние (*приобретенные в индивидуальной жизни признаки – Я.М. Галл*) представляют собой адаптивные модификации, которые организм приобретает в ходе онтогенеза, они могут быть названы «приобретенные признаки», но я предпочитаю их называть в качестве формы «онтогенетических вариаций», если слово “вариации” использовать в широком смысле» (Baldwin, 1896, P. 442). Но существуют и совпадающие или филогенетические вариации, которые также воздействуют на интеллект и нервную систему. Именно эти филогенетические (наследственные) вариации и замещают адаптивные модификации. Это и есть органический отбор или то, что позднее было названо «эффектом Болдуина».

Статья Болдуина в изобилии содержит такие выражения, как «наследование приобретенных признаков» или «упражнение» и «не упражнение» органов, и при первом просмотре не оставляет сомнений в том, что она откровенно ламаркистская. Но Болдуин провел различие между естественным и органическим отбором. В случае естественного отбора отбираются случайные вариации. В случае же с органическим отбором отбираются совпадающие вариации, т. е. те, которые копируют адаптивные модификации. Концепция Болдуина построена на примерах, хорошо ему известных и тщательно отобранных из области психологии и неврологии, в частности, из области умственного развития ребенка. В этой области он был специалистом и пытался через особенности постнатального развития решать проблемы наследования признаков в ходе филогенетического развития. До возникновения генетики статья Болдуина казалась ламаркистской и пользовалась популярностью, а после возникновения генетики как науки была по тем же причинам отвергнута. Болдуин стремился выстроить триаду: индивидуальное развитие – филогенез – наследственность. Сейчас эта проблема вновь в центре внимания, но, конечно же, исследования ведутся на совершенно другом уровне.

Статью Болдуина трудно сопоставлять со статьей Е.И. Лукина 1936 г., изданной на украинском языке в Харькове. В работах ставились и решались совершенно разные задачи. Болдуин фактически решал проблемы эволюции онтогенеза, и в этом отношении его работа хорошо сопоставима с трудами И.И. Шмальгаузена в области теории стабилизирующего отбора. Лукин ставил и решал конкретные и вполне верифицируемые проблемы на самом разнообразном натуралистическом материале: образование географических и экологических рас, образование внутрипопуляционного поли-

[5] Д. Джейсмон (Jameson, 1977) в разделе «Hammer and tongs» (Молоток и клещи) переиздал классическую статью С.С. Четверикова 1926 г. и его доклад на 5-м Международном генетическом конгрессе в 1927 г. (Берлин), на котором были доложены некоторые итоги первых в мире исследований генетической структуры природных популяций дрозофилы, выполненных под его руководством. Эти исследования доказали справедливость метафорического утверждения Четверикова о виде как «губке», впитывающей в гетерозиготном состоянии много разнообразных мутаций. Концепция Е.И. Лукина о замене адаптивных модификаций мутациями в ходе эволюции в значительной степени опиралась и на исследования С.С. Четверикова и его учеников, так как в ней было использовано представление о насыщенности природных популяций множеством мутаций, в том числе и сходных по фенотипическому проявлению с адаптивными модификациями и морфозами.

морфизма. Позднее, благодаря работам Г.Ф. Гаузе, гипотеза Е.И. Лукина в известной мере прошла проверку и на экспериментальном материале. Очевидно, работа Лукина не была переложением работы Болдуина. Это был оригинальный и совершенно другой научный поиск. Корни теоретических поисков Е.И. Лукина следует искать в иных исследовательских сферах.

Каковы причины возрождения около 1936 г. вопроса об эволюционной роли адаптивных модификаций? Известный американский историк генетики и теории эволюции М. Адамс выполнил интересные исследования, посвященные выявлению вклада С.С. Четверикова и его школы в формирование эволюционной генетики и синтетической теории эволюции. Он рассмотрел этот вклад в период с 1925 по 1935 гг. Этот проект был выполнен в контексте исторического исследования путей синтеза натурализма, биометрии и генетики. Удалось показать, что все эти компоненты до возникновения исследований С.С. Четверикова и его школы существовали в изоляции, и только московская школа эволюционных генетиков осуществила синтез. Сам С.С. Четвериков был одновременно натуралистом, биометриком и генетиком, что и предопределило общий успех в реализации такой обширной программы (Adams, 1968, 1970).

Пожалуй, в данном контексте одним из самых интересных событий в эволюционной теории после 1935 г., разумеется, в рамках упомянутой триады Адамса было широкое обсуждение вопроса о роли ненаследственных факторов в эволюции.

Е.И. Лукин был одновременно и натуралистом, и хорошо образованным в области генетики. Вопрос о роли ненаследственных факторов в эволюции был поставлен Е.И. Лукиным в ходе обширной программы исследований по проблеме вида, его структуры, образования внутривидовых единиц и начальных этапов видообразования. Программа Е.И. Лукина в полной мере была реализована в его монографии, изданной в 1940 г. Книга Е.И. Лукина представляла собой синтез ботанического и зоологического знания и одновременно была выполнена в теоретическом и историко-научном ракурсе. Эта книга почти забыта и слабо цитируется в литературе по теории эволюции. Причин такой судьбы интереснейшей книги несколько. Она была опубликована накануне войны, а после войны началось лысенковское мракобесие. Книга Е.И. Лукина получила высшие похвалы в переписке и в официальных рецензиях Ф. Добржанского, Г.Ф. Гаузе и И.И. Шмальгаузена. Полностью привожу письмо Шмальгаузена к Лукину, датируемое 21 апреля 1941 г.: «Многоуважаемый Ефим Иудович! Большое спасибо за Вашу книгу. Это очень важная сводка, которая очень многим поможет разобраться в большом материале по географической изменчивости организмов. К сожалению, против Вас (и попутно против меня) готовится поход за эту книгу. (*Шмальгаузен был ответственным редактором – Я.М. Галл*). В основном, по-видимому, за внимание к работам ВИРа. Поход, очевидно, столь серьезный, что у нас в редакции боятся пускать в очередной номер Вашу статью – хотят выждать и посмотреть. С искренним приветом Ваш И. Шмальгаузен».

По мнению А.Л. Тахтаджяна – одного из авторитетных экспертов в области теории эволюции, книга Е.И. Лукина должна быть переиздана, так как она является классической монографией по теории эволюции, в которой впервые в истории биологии была последовательно изложена концепция политипического вида.

Г.Ф. Гаузе дал итоговую оценку работ Е.И. Лукина в опубликованной статье, которая датируется 26 февраля 1945 г.: «Дорогой Ефим Иудович! Я был очень рад получить Ваше письмо. Ваши работы по совпадающему отбору я считаю самыми интересными из всего цикла этих работ, и с Вашей работой 1942 г. я вполне согласен. Видели ли Вы рецензию Добржанского на Вашу книгу о географической изменчивости в “Science”? Он Вас очень хвалит. … Ваш Г. Гаузе».

Генетикам, зоологам и биологам-эволюционистам есть все основания отметить 100-летие со дня рождения профессора Ефима Иудовича Лукина. В память о нем и подготовлена настоящая публикация.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 04–06–80436).

Литература

Галл Я.М. Г.Ф. Гаузе – эколог и эволюционист. СПб.: Альманах, 1997. 160 с.

Гаузе Г.Ф. J. Huxley. Evolution: The Modern Synthesis (рецензия) // Усп. соврем. биологии. 1944. Т. 17. Вып. 3. С. 400–401.
Гаузе Г.Ф. Экология и некоторые проблемы происхождения видов // Экология и эволюционная теория. Л.: Наука, 1984. С. 5–105.
Кирпичников В.С. Роль ненаследственной изменчивости в процессе естественного отбора (гипотеза о косвенном отборе) // Биол. журнал. 1935. Т. 4, № 5. С. 775–800.
Кирпичников В.С. Значение приспособительных модификаций в эволюции // Журн. общ. биологии. 1940. Т. 1, № 1. С. 121–152.
Кирпичников В.С. О гипотезах наследственного закрепления модификаций // Усп. соврем. биологии. 1944. Т. 18, № 3. С. 314–339.
Колчинский Э.И. В поисках советского «союза» философии и биологии. СПб., 1999. 273 с.
Лукін Е.И. Проблема географічноі мінливості организмів // Учені записки Харківського університету. 1935. № 2/3. С. 15–22.
Лукін Е.И. Про причини заміни в процесі органічноі еволюціі неспадкових змін спадковими з погляду теоріі природного добору // Учені записки Харьківського університету. 1936. С. 200–208.
Лукін Е.И. Про локальну та сезонну мінливість *Pyrrhocoris apterus* // Праці науково-дослідного зоолого-біологічного інституту. 1939а. № 6. С. 57–82.
Лукін Е.И. Про географічну мінливість величини деяких комах // Праці науково-дослідного зоолого-біологічного інституту. 1939б. № 6. С. 74–82.
Лукин Е.И. Дарвинизм и географические закономерности в изменении организмов. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1940. 311 с.
Лукин Е.И. Приспособительные ненаследственные изменения организмов и их эволюционная роль // Журн. общ. биологии. 1942. Т. 3, № 4. С. 235–261.
Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 597 с.
Никоро З.С. Из жизни Центральной генетической станции // Природа. 2005. № 3. С. 67–73.
Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. 1938. Переизд.: М.: Наука, 1982. 383 с.
Шмальгаузен И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1939. 231 с.
Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. 1946. Переизд.: М.: Наука, 1968. 451 с.
Adams M. The founding of population genetics: contribution of the Chetvericov school, 1924–1934 // J. Hist. Biol. 1968. V. 1, N 1. P. 3–39.
Adams M. Towards a synthesis: population concepts in Russian evolutionary thought, 1925–1935 // J. Hist. Biol. 1970. V. 3, N 1. P. 107–129.
Baldwin J.A. New factor in evolution // Amer. Nat. 1896. V. 30. P. 441–445 / Reprinted in: Evolutionary Genetics (ed. D. Jameson). Stroudsburg, Pennsylvania: Dowden, Hutchinson, 1977. P. 45–50.
Baldwin J. Development and Evolution. N. Y.: Macmillan Co., 1902. 395 p.
Gaissinovitch A.E. The origin of soviet genetics and the struggle with Lamarckism // J. Hist. Biol. 1980. V. 13, N 1. P. 1–51.
Gause G.F. Problems of evolution // Trans. Connecticut Acad. Arts and Sci. 1947. V. 37. P. 17–68.
Evolutionary Genetics / Ed. D. Jameson. Stroudsburg, Pennsilvania: Dowden, Hutchinson, 1977. 332 p.
Kirpichnikov V.S. The problem of non-heredity adaptive modifications (coincident or organic selection) // J. Genet. 1947. V. 48, N 2. P. 164–175.
Simpson G. The Baldwin effect // Evolution. 1953. V. 7, N 1, P. 110–117.
Waddington C. Genetic assimilation of an acquired character // Evolution. 1953. V. 7, N 1. P. 118–126.

The development of the natural selection theory in the works of E.I. Lukin

Ya.M. Gall

St.-Petersburg Affiliation of Institute of Natural History and Technique of the RAS;
Pushkin Leningrad State University, Pushkin, Russia

Summary

This article overviews the discussion that took place in evolutionary theory due to the publication of the classic work of E. Lukin in 1936 in Ukrainian language. In this work Lukin raised a question about the role of non-heredity changes in the origin of geographical and ecological races. He proposed a hypothesis about replacing of adaptive modifications by mutations which are similar in phenotypic manifestation, in the process of natural selection. This approach analyses the critique of J. Simpson' and E. Mayr's conceptions of the role of adaptive modifications in evolution. Also it gives the comparative analysis of the works of J. Baldwin and E. Lukin in the aspect of the thematic analysis of science. It shows the estimation of Lukin's conception made by I.I. Schmalgausen and G.F. Gause. The author of the article concludes that the publication of Lukin's conception in 1936 was the important landmark in the development of evolutionary theory, and it defined the direction of experimental and theoretical research that nowadays becomes a practice of evolutionary and ecological genetics.

ЮБИЛЕЙ АКАДЕМИКА РАСХН, ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ РФ ВИКТОРА АЛЕКСАНДРОВИЧА ДРАГАВЦЕВА

18 октября исполнилось 70 лет директору ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова Виктору Александровичу Драгавцеву, выдающемуся специалисту в области растениеводства и генетики.

Теоретические исследования В.А. Драгавцева по генетике онтогенеза и эколого-генетической организации сложных количественных признаков растений принесли ему известность в научных кругах России и за рубежом. В результате его многолетних экспериментов, проведённых в Институте цитологии и генетики СО АН СССР, был открыт ряд закономерностей в области наследования у растений, разработан метод оценки наследственности и среды в развитии признаков растений, не требующий смены поколений; сформулирован и проверен на популяциях разных растений принцип фоновых признаков, позволяющий разграничить вклад наследственности и среды в продуктивность отдельной растительной особи в популяции. Этот принцип внесен в международную энциклопедию «Основы жизни».

В 1970–1983 гг. под руководством В.А. Драгавцева была разработана и реализована программа ДИАС – самая крупная кооперативная программа по генетике продуктивности яровой пшеницы. В результате были выявлены закономерности формирования и наследования элементов продуктивности и созданы качественно новые сорта для Сибири, Урала и Казахстана, получившие широкое распространение в производстве: Алтайская 92, ДИАС-2, Казахстанская ранняя, Кантегирская 89, Баганская 93 и др.

В.А. Драгавцевым совместно с А.Б. Дьяковым (ВНИИМК, Краснодар) разработаны принцип и теория идентификации генотипов растений по фенотипам. Выделены семь генетико-физиологических систем, с помощью которых можно повышать урожайность сортов. Для каждой системы созданы экспресс-методы идентификации селекционно ценных сдвигов в популяции растений.

Совместно с П.П. Литуном (Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, Украина) и сотрудниками ИЦиГ СО АН СССР В.А. Драгавцевым разработана новая теория эколого-генетической организации сложных количественных признаков. Развитие этой теории продолжается и в настоящее время в лаборатории экологической генетики в ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. Результатом проведенных исследований явилось раскрытие механизмов и прогнозирования эффектов взаимодействия «генотип–среда», механизмов трансгрессий и прогнозирование их появления, объяснение сдвигов и прогнозирование изменения знаков и величин генетических и экологических корреляций, а также понимание природы экологически зависимого гетерозиса и прогнозирование его проявления. На основе этих исследований разра-

ботана новая наукоёмкая селекционная технология, ускоряющая и удешевляющая селекционный процесс.

Особо следует отметить этап научной и организационной деятельности В.А. Драгавцева на посту директора ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. Начало его работы совпало с периодом распада Советского Союза, что привело к потере 6 важнейших опытных станций системы института, сокращению бюджетного финансирования по фонду заработной платы и фактическому прекращению финансирования на экспедиции, командировки, закупку оборудования, реактивов, материалов, на оплату коммунальных услуг. Уникальная коллекция мировых генетических ресурсов растений (ГРР) оказалась под угрозой гибели. В этой сложной обстановке благодаря усилиям В.А. Драгавцева и дирекции института была налажена научная и организационная работа по поддержанию всхожести, сохранению и изучению коллекций ГРР на оставшихся на территории России опытных станциях. Был организован перенос части коллекций со станций, отошедших к странам СНГ. ВИРу был присвоен статус Государственного научного центра.

В 1990-е гг. в мире усилилось внимание к ГРР и правительства большинства стран мира пришли к пониманию их стратегической значимости. Стало очевидным, что ГРР являются важнейшим приоритетом для жизнеобеспечения и продовольственной безопасности не только отдельной страны, но и планеты в целом. В этот период были приняты такие важнейшие международные документы, как Конвенция о биоразнообразии и Глобальный план действий. Под руководством В.А. Драгавцева ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова как один из крупнейших центров ГРР и один из крупнейших генбанков мира активизировал международные связи в области ГРР и в настоящее время сотрудничает со 152 странами мира по обмену генетическими ресурсами растений и с 29 странами – по их сбору, сохранению и изучению.

Виктор Александрович пользуется заслуженным авторитетом среди ученых, выполняя большую общественную работу. Он является членом: секции журнала «Сельскохозяйственная биология», редакционного совета журнала «Аграрная Россия», Совета директоров международных журналов «Генетические ресурсы и эволюция растений» (Германия) и «Акта биология» (Словакия), секции «Генресурсы» ЭУКАРПИЯ; членом редакционной коллегии журнала «Генетика и селекция растений» (Чехия). Нельзя не отметить несомненную заслугу В.А. Драгавцева на посту ученого секретаря Научного совета по генетике и селекции АН СССР в 1970–1980 гг. по восстановлению статуса генетики как науки и реабилитации трудов многих отечественных ученых. В.А. Драгавцев активно работает в качестве члена Центрального совета ВОГиС, попечительского совета Международного фонда им. Н.И. Вавилова. В.А. Драгавцев является экспертом Европейской группы по чешскому генбанку, членом рабочей группы Российско-Американской Межправительственной комиссии (Гор-Черномырдин). В 1998 г. В.А. Драгавцев был избран вице-президентом Международного Центра лубяных и волокнистых культур. В течение 1995–2000 гг. работал членом Совета ЭУКАРПИЯ, является ключевым представителем России в консультативной группе по международным исследованиям в сельском хозяйстве.

В.А. Драгавцев неоднократно приглашался с докладами на различные международные форумы, входил в состав организационных комитетов крупнейших международных совещаний. Многолетние исследования В.А. Драгавцева опубликованы в 300 научных работах; он является автором и соавтором 16 монографий; имеет 3 авторских свидетельства и один патент. Научные разработки В.А. Драгавцева включены во многие учебники по генетике и селекции растений.

Весомый вклад внес В.А. Драгавцев в подготовку научных кадров. Он преподавал генетику и селекцию растений в Казахском сельскохозяйственном университете; генетику растений в Новосибирском госуниверситете; популяционную и количественную генетику растений в университете Манитобы (Канада); количественную и физиологическую генетику в университете Альберты (Канада). Научная школа В.А. Драгавцева получила официальное государственное признание и в 1999–2004 гг. материальную поддержку от РФФИ.

Под его руководством было подготовлено более 30 кандидатов и 10 докторов наук.

В.А. Драгавцев является председателем Диссертационного совета по защитам докторских диссертаций при ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова по специальностям: «Генетика», «Физиология и биохимия растений», «Биологические ресурсы».

За научные заслуги перед Россией и мировым сообществом В.А. Драгавцев удостоен званий: заслуженный деятель науки РФ, профессор, академик РАСХН, академик РАЕН, член Лондонского Королевского Линнеевского общества, академик Академии сельскохозяйственных наук Словакии, академик Аграрной академии Чехии, академик международной Академии натуральных продуктов и биотехнологии, академик Монгольской Академии естественных наук, Почетный профессор университета города Нитры (Словакия), Луганского Национального сельскохозяйственного университета (Украина) и Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова. Награжден Президиумом АН СССР – золотой медалью им. Н.И. Вавилова; Президиумом РАЕН – медалью им. В.И. Вернадского; Президиумом АН Таджикистана – медалью им. Б. Гафурова; Президиумом Академии сельскохозяйственных наук Словакии – медалью Святого Константина.

Пожелаем Виктору Александровичу крепкого здоровья и реализации всех его творческих планов, связанных с его любимой наукой.

Коллектив ГНУ ГНЦ РФ ВНИИ растениеводства
им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

ТРУДЫ И АУРА ЭВОЛЮЦИОНИСТА

Рецензия на книгу: Н.Н. Воронцов. Эволюция. Видообразование. Система органического мира. (Избранные труды). М.: Наука, 2004. 365 с.

Выход в свет книги избранных трудов крупного ученого можно сравнить с вернисажем известного художника. Как будто помнишь по отдельности работы, разбросанные по разным музеям или коллекциям, но вот они собраны под одной крышей, в единстве пространства и времени – и создается иное, целостное впечатление. При этом столь естественные для каждого самобытного творца в науке и искусстве повторения нисколько не смущают. Как одни и те же водяные лилии при разном освещении и разном ракурсе на полотнах Клода Монэ в «Оранжери». Подобное ощущение возникает, когда держишь в руках и читаешь прекрасно изданную книгу выдающегося эволюциониста-зоолога Николая Николаевича Воронцова (1934–2000), которая вышла под грифом Института биологии развития РАН подвижническими стараниями его многолетней коллеги, соавтора и спутницы жизни д.б.н. Е.А. Ляпуновой. В нее включены также неопубликованные ранее письма в защиту науки, публицистика, к примеру, такое неожиданное «письмо наверх» по острой проблеме Южных Курил с характерным подзаголовком: «Взгляд натуралиста и политика». Она иллюстрирована богатой «фото/иконографией» – учителя, коллеги, моменты из экспедиций, съездов и встреч с биологами и деятелями разных стран.

В России издавна сложилось, что в разных областях науки возникали весьма несходные между собой по стилю и устремлениям научные школы, тяготеющие в основном к двум столицам – Петербургу и Москве. Воронцов-москвич, окончив с отличием Московский госуниверситет, приезжает в Ленинград и становится аспирантом Зоологического института АН СССР у видного териолога Б.С. Виноградова. Тема исследований – эволюционная морфология хомяков в объеме мировой фауны. Затем Воронцов пять лет, вплоть до 1963 г., работает в ЗИНе, где, по его словам, учат и люди, и стены, и библиотеки. «Мне посчастливилось, – писал Николай Николаевич в последней своей книге, – быть учеником разных зоологических, генетических и эволюционных школ обеих наших столиц». В 1964 г. Николай Николаевич возвращается в Москву и возглавляет кафедру эволюционной биологии 2-го Медицинского института. А затем – около 12 лет работы в академических институтах Сибири и Дальнего Востока.

Двустоличный плюрализм несомненно способствовал недогматическому научному стилю и высокому авторитету Н.Н. Воронцова как биолога-эволюциониста. Диалогичность, культура несогласия чувствовались в его статьях, выступлениях и при личном общении. Они нашли отражение в названиях помещенных в сборник работ, к примеру: «Постепенное или внезапное видообразование: «или–или» или «и–и». В титуле одной из его самых известных аналитических статей (1980 г.) о доминировавшей тогда синтетической теории эволюции (СТЭ) стоят слова: «постулаты и нерешенные проблемы». Именно в выпускаемых с конца 1960-х гг. под редакцией Воронцова сборниках «Проблемы эволюции» критик дарвинизма А.А. Любищев смог опубликовать свои неканонические критические исследования.

Н.Н. Воронцов так определил основные направления своих работ: «зоология, териология, систематика, эволюция, история науки». Но это лишь сухой абрис. Можно сходу добавить: эволюционный морфолог, основатель кариосистематики животных в России, зоогеограф и путешественник, популяционный генетик, а также организатор и радетель науки, известный общественный деятель, активный думский депутат и волею судеб –

первый беспартийный министр охраны окружающей среды в последнем коммунистическом правительстве СССР. Извивы его судьбы поневоле напоминают судьбу классика теории эволюции Жоржа Кювье (1769–1832), который при Наполеоне стал президентом Совета по образованию и членом Госсовета, создал факультет естественных наук в Парижском университете и организовал ряд университетов и лицеев во Франции. Кювье оставался на высоких постах и после реставрации, не запятнав свое имя конформизмом. И даже время жизни и Кювье и Воронцову нещедрая судьба отпустила почти одинаковое…

Воронцов вел исследования на разных уровнях эволюции и биоразнобразия: от мегасистематики, анализа неравномерности темпов преобразования органов, проблем трансберингийских связей млекопитающих до взаимоотношений близких видов на стыках их ареалов и их внутривидовой ранжировки. Его уникальность как эволюциониста состояла в органичном слиянии классических для зоолога методов эволюционной морфологии и новых подходов XX века – кариосистематики, цитогенетики и затем молекулярной генетики. В книге помещена проблемная статья «Значение изучения хромосомных наборов для систематики млекопитающих». Ее положения Воронцов в 1956 г. изложил на трех семинарах – в родном ему ЗИНе, а затем в Москве, в МОИП, и в лаборатории генетики Института биофизики. Содержание, стиль и концептуальные подходы этой статьи отнюдь не устарели. Просто поразительно, что уже в 22 года молодой зоолог наметил программу работ в новой области, которую счастливым образом и с большим размахом сумел воплотить в жизнь, создал научную школу и сделал со своими коллегами ряд открытий в кариосистематике и эволюционной генетике. Не удивительно, что один из его учеников (В.Т. Волобуев) – ныне профессор того самого Музея естественной истории в Париже, где работал Кювье.

Есть тонкие пленительные связи / меж контуром и запахом цветка. Это известное художественное предвидение Ф. Тютчева, кажется, не стало еще предметом научных биоизысканий. Зато тонкие связи между набором хромосом в кариотипе, его перестройками и фенотипическим контуром организма были обнаружены еще в начале XX века классиком генетики ботаником Гуго де Фризом. На энотере им была найдена гигантская форма растения, возникшая вследствие удвоения числа хромосом. Фенотипическое воплощение имели перестройки хромосом внутри видов, а близкие виды энотер отличались целыми комплексами хромосом. Сейчас уже трудно представить то изумление генетиков, когда в 1920-е гг. Хироши Кихара открыл «пленительные связи» между контуром цветка и колоса у пшеницы и числом хромосом в геноме. Однозернянки, двузернянки и мягкие пшеницы отличаются кратным изменением числа хромосом: 14, 28, 42 и сочетанием разных геномов. В начале 1930-х гг. Ф. Добжанский, ученик Ю.А. Филипченко, главы Петербургской школы генетиков, стал работать в лаборатории Т. Моргана и открыл на дрозофиле географический полиморфизм по инверсиям и различия близких видов по перестройкам хромосом, которые создают генетическую изоляцию. Стало очевидным, что и у других животных хромосомные мутации могут быть либо пусковым механизмом, либо важным биомаркером видовых границ и путей видообразования – процесса, лежащего в основе эволюции и в основе интересов Н.Н. Воронцова. Намеченная им в молодости программа состояла в синтезе эволюционной морфологии, зоогеографии и внутри- и межвидовой изменчивости хромосомных наборов.

Я хорошо помню, когда в 1965 г. Н.Н. Воронцов приехал в новосибирский Академгородок и в составе лаборатории генетики популяций (организатор и её заведующая Р.Л. Берг) Института цитологии и генетики СО АН СССР организовал группу эволюции и кариосистематики. Он собрал вокруг себя круг цитологов, заразил своим азартом молодых сотрудников, выпускников университетов Москвы и Новосибирска. Начались взаимное обучение, переводы книг, бурные научные дискуссии. Энтузиазм, который царил в этой группе, напоминал, видимо, знаменитый эволюционный семинар СООР Кольцова–Четверикова 1920-х гг., где зарождалась московская школа эволюционной генетики. В последующие пять лет с боль-

шим размахом была проведена серия среднеазиатских и забайкальских экспедиций. По всему гигантскому маршруту в десятки тысяч километров собирался зоологический материал, и впервые были определены кариотипы более 100 видов млекопитающих, взятых из разных точек их ареалов.

Результаты изучения географии геномов в тесном сочетании с феногеографией и сравнительной морфологией создали необходимую базисную феноменологию фактов и знаний на стыке этих эволюционных дисциплин. Последовал важный обоснованный вывод о разных путях видообразования у млекопитающих – не только постепенного, градуального (дарвиновского), но и сальтационного, где исходно мутационное преобразование генома. Как это обычно случается при систематических исследованиях, повезло и с открытием. У роющих грызунов слепушонок было найдено уникальное явление – взрывной «веер» изменений числа разных хромосом. Эти популяции обитают в узкой зоне гор Памиро-Алая и Южного Тянь-Шаня в областях с сильной сейсмичностью, где действует целый букет мутагенных факторов. Оказалось, что у многих групп млекопитающих частота хромосомных мутаций может быть в сотни раз выше, чем считалось ранее. При этом разрывы хромосом обычно происходят в довольно упорядоченных местах, канализируя пути дальнейшего изменения генома и видообразования.

У многих крупных биологов теоретизированию в области теории эволюции предшествует сбор коллекций и доскональное изучение систематики определенной группы организмов. Ч. Дарвин до «Происхождения видов» выпустил 4 тома исследований по систематике усоногих раков. С.С. Четвериков был признанным знатоком систематики и коллекционером бабочек. А.А. Любищев многие годы занимался систематикой жуков. Эрнст Майр, недавно ушедший из жизни в возрасте 100 лет, в молодости вел исследования по систематике тропических птиц. Фаворитами Воронцова-зоолога были мышевидные грызуны. Как-то он признался, что если вдруг его разбудят среди ночи, он готов сходу прочесть лекцию на русском, немецком или английском языках по систематике, зоогеографии или эволюции грызунов и их пищеварительной системе. Эти знания послужили основой для удивительного открытия – одна из мутаций, приводящая к наследственному раку желудка и, следовательно, к смерти в силу злокачественного разрастания макроворсинок (папил-ломатоз) у четырех видов из разных родов грызунов, оказалась фиксированным видовым признаком! Мутация обычно летальна на поздней стадии развития, но способна обеспечить своим носителям адаптивную симбиотическую флору желудка, и потому летальный эффект у некоторых видов нейтрализуется и мутация становится видовым признаком. Сходным образом Н.Н. Воронцов, обозрев все 20 отрядов и 1037 родов млекопитающих, показал фиксацию другой макромутации – безволосости – у видов, относящихся к 53 родам. До этого эволюционисты считали, что «многообещающие монстры» – лишь неудачная метафора зоолога, генетика и создателя недарвиновской концепции макроэволюции Рихарда Гольдшмита.

В 1969 г. и затем в 1977 г. вышла книга трех авторов: Н.В. Тимофеева-Ресовского, Н.Н. Воронцова и А.В. Яблокова «Краткий очерк теории эволюции», где ясно и убедительно изложены основные положения синтетической теории эволюции (СТЭ), которая объединила дарвинизм и генетику 1960–1970-х гг. В период написания этой сводки Н.Н. Воронцов, несомненно, находился под мощным интеллектуальным влиянием своего учителя в области эволюционной генетики Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского. Но в 1980 г. появляется большая проблемно-обзорная статья Воронцова, посвященная постулатам и нерешенным проблемам синтетической теории эволюции. Здесь Н.Н. Воронцов, следуя своим другим предшественникам эволюционистам-зоологам Л.С. Бергу и А.А. Любищеву, представил доминировавшую десятилетиями СТЭ в виде общепринятых или неявно (имплицитно) подразумеваемых постулатов и показал, что большинство из них нуждаются в ревизии. Здесь уже сказался громадный собственный опыт автора в области эволюционной биологии, его недогматичность, открытость к новым данным и способность к пересмотру своих взглядов. Вспоминается метафора зоолога, Нобелевского лауреата К. Лоренца: «Полезно проделы-

вать ежедневно, подобно утренней гимнастике, болезненное, но сохраняющее молодость и здоровье упражнение – выбрасывать за окно какую-нибудь любимую гипотезу».

Я думаю, не случайно Н.Н. Воронцов свою последнюю книгу «Развитие эволюционных идей в биологии» (1999) начинает словами: «Эта книга рассчитана на интеллигентного читателя. Идея историчности развития, идея эволюции принадлежит к числу немногих фундаментальных идей не только естествознания, но и всех наук, в том числе и общественных». Интеллигентный читатель, по мысли Н.Н. Воронцова, должен быть готовым свободно воспринимать и самостоятельно оценивать нередко жестко оппозитные среди натуралистов и естествоиспытателей мнения и взгляды на вечные эволюционные темы: «кто, что», «от кого», «когда», «каким образом» и «зачем». По этим вопросам между естествоиспытателями не было и, видимо, никогда не будет согласия. Несогласие нередко выходит за рамки обычной полемики. Известно, что основатель систематики Карл Линней столь не переносил стиль и взгляды своего ровесника энциклопедиста Бюффона (оба родились в 1707 г.), что дал виду жабы двойное название, как бы отталкиваясь от своего оппонента, – *Bufo bufo*.

Сложившиеся сразу после Ч. Дарвина, а затем в рамках СТЭ представления в этой области казались большинству биологов столь незыблемыми, что эволюционные новации отторгались большинством с таким же ожесточением, как сторонники мифа защищают его положения. На второй план отступают даже различия в политических режимах. Два крупных зоолога Лев Семенович Берг (1876–1950) в Советской России и Рихард Гольдшмит (1878–1958) в Германии, а затем в США выдвинули недарвиновские концепции макроэволюции, которые вначале были решительно отвергнуты научным сообществом этих стран, а затем, спустя более 40 лет, стали постепенно находить признание как составная часть общего понимания путей эволюции. Можно отметить и такой историко-научный парадокс. Оба зоолога, концепции которых были так резко отвергнуты, по своим научным достижениям, диапозону знаний входили в высшую когорту биологов. Бесспорно, отмечал Воронцов, что современное Л.С. Бергу «общественное мнение в своей критике номогенеза было по своему рангу ниже Берга и понадобилось более полувека, для того чтобы идеи о существовании определенной направленности эволюции приобрели немало сторонников».

Р. Гольдшмит, который в 1940 г. резко обозначил свою оппозицию селектогенезу или представлению о ведущей роли отбора в эволюции, в своих мемуарах вспоминает: «Я определенно разворошил осиное гнездо. Неодарвинисты реагировали яростно. В эти годы я считался не только сумасшедшим, но почти криминальным». Действительно, в предисловии к переизданию в 1982 г. книги Гольдшмита «Материальные основы эволюции» (вышла впервые в 1940 г. в США) известный эволюционист Ст. Гулд привел любопытное с точки зрения истории науки свидетельство одного американского профессора биологии о том, что при упоминании о взглядах Гольдшмита в 1960-е гг. студенты начинали «смеяться и хихикать, как бы показывая, что они невиновны в таком невежестве и ереси». Оказывается, сам этот профессор книгу Гольдшмита выкинул, а потом, когда в конце 1970 г. захотел прочесть, то узнал, что ее нет и в университетской библиотеке. В этой связи Гулд упомянул роман Орвелла «1984», где сходная фамилия врага народа Гольдштейн была объектом «двухминуток ненависти».

В последнем разделе книги приведены воспоминания о Воронцове его коллег, друзей и современников. Б. Даль, бывшая многие годы министром окружающей среды Швеции, вспоминает: «Его обширные познания в своей собственной и других областях науки, знание условий жизни в разных частях громадного Советского Союза, его подлинное гуманистическое и демократическое расположение к друзьям и коллегам, открытость к остальному миру были бесценными свойствами в его работе». Солидность издания, видимо, не позволила составителям включить в последний раздел написанные по случаю 60-летнего юбилея шутливые стихи Л.А. Блюменфельда – основателя кафедры биофизики физфака МГУ. Именно на этой кафедре Н.Н. Воронцов читал курс теории

эволюции. Жанр рецензии позволяет мне привести некоторые строки из этого юбилейного послания Воронцову 2 января 1994 г.

Всю жизнь он был других заметней
Из Тимофеевских птенцов.
Вот он, шестидесятилетний
Политик Коля Воронцов.

В года застойные, глухие
Водил отряды храбрецов
С собою по степям России
Зоолог Коля Воронцов!

С азартом, всем друзьям, знакомым,
Без обеспеченных тылов
Бесстрашно воевал с крайкомом
Директор Коля Воронцов.
… … … …
Еще в Верховном том Совете,
Спасая Русь от подлецов,
Считал себя за все в ответе
Парламентарий Воронцов.

Читая только что вышедшую книгу избранных работ Н.Н. Воронцова (а также его последнюю замечательную книгу «Развитие эволюционных идей в биологии»), чувствуешь себя комфортно, ибо его работы вобрали все потоки эволюционной мысли в их истории и в их динамике. Ценно убеждение автора, что создание целостной концепции эволюции – дело будущего. Несомненно, что в этом будущем результаты исследований Н.Н. Воронцова будут заметны и важны, с их солидной биологической основой и с той интеллигентной аурой, которая способствует и самому поиску, и благоприятному климату в научном сообществе.

М.Д. Голубовский
Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники РАН