

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
РАСТЕНИЕВОДСТВА имени Н. И. ВАВИЛОВА (ВИР)

**ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ,
ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ**
том 174



Редакционная коллегия

Д-р биол. наук, проф. *Н. И. Дзюбенко* (председатель), д-р биол. наук *О. П. Митрофанова* (зам. председателя), канд. с.-х. наук *Н. П. Лоскутова* (секретарь), д-р биол. наук *С. М. Алексанян*, д-р биол. наук *И. Н. Анисимова*, д-р биол. наук *Н. Б. Брач*, д-р с.-х. наук, проф. *В. И. Буренин*, д-р биол. наук, проф. *М. А. Вишнякова*, д-р биол. наук *С. Д. Киру*, д-р биол. наук *И. Г. Лоскутов*, д-р биол. наук *Е. К. Потокина*, д-р биол. наук *Е. Е. Радченко*, д-р биол. наук *О. В. Солодухина*, д-р биол. наук *Ю. В. Чесноков*, канд. биол. наук *Е. И. Гаевская*, канд. биол. наук *Т. Н. Смекалова*, *В. Г. Лейтан*

Ответственный редактор тома – канд. биол. наук *Е. И. Гаевская*

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

2013

УДК 633.1: 633.854.78: 634.2: 635.5: 575.1:581.573.4

ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ, ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ. Т. 174.
СПб.: ВИР, 2013. 150 с.

Представлены материалы докладов III Вавиловской международной конференции (6 – 9 ноября 2012 г., г. Санкт-Петербург) «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» по следующим тематическим направлениям:

1. Естественный иммунитет растений к вредным организмам;
2. Генетические ресурсы растений в эпоху интеграции и молекулярных технологий.

Табл. – 30, рис. – 18, библиогр. – 381 назв.

Для ресурсоведов, генетиков, селекционеров, преподавателей вузов биологического и сельскохозяйственного профиля.

PROCEEDINGS ON APPLIED BOTANY, GENETICS AND BREEDING. V. 174. SPb:
VIR, 2013. 150 p.

These proceedings of the III International Vavilov Conference “N.I. Vavilov’s Ideas in the Modern World” (November 6 – 9, 2012) cover the following topics:

1. Natural immunity of plants to harmful organisms;
2. Plant genetic resources in the age of integration and molecular technologies.

Tabl. – 30, Figs. – 18, Refs. – 381.

Addressed to genetic resources experts, geneticists, plant breeders, and lecturers of biological and agricultural universities and colleges.

Рекомендовано к печати

Ученым советом ГНУ ВИР Россельхозакадемии
(протокол № 10 от 29.10.2013 г.)

© Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
растениеводства имени Н. И. Вавилова
Российской академии сельскохозяйственных наук
(ГНУ ВИР Россельхозакадемии), 2013

ЕСТЕСТВЕННЫЙ ИММУНИТЕТ РАСТЕНИЙ К ВРЕДНЫМ ОРГАНИЗМАМ

УДК 633.11:581.573.4

УСТОЙЧИВОСТЬ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ ОБРАЗЦОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Т. В. Лебедева, Е. В. Зуев, С. Н. Стецюк

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: riginbv@mail.ru

Резюме

Представлены результаты оценки устойчивости к мучнистой росе 533 образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в фазу колошения и цветения растений. Выявлены образцы мягкой пшеницы, устойчивые к популяции патогена в течение ряда лет: Омская 18 (к-58220); Линия ИТ-3 (к-50849); Canon (к-61222); Dragon (к-61515); Dacke (к-63479); Sunnan (к-58177); Atson (к-41993); As (к-34982); line I Sr5-Rb (к-54868). Проведен мониторинг изменений в популяции гриба *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin Ленинградской обл. за 1980–2012 гг.

Ключевые слова: пшеница, мучнистая роса, устойчивость, вирулентность, популяция.

POWDERY MILDEW RESISTANCE IN WHEAT VARIETIES (*TRITICUM AESTIVUM* L.) FROM THE VIR COLLECTION

Lebedeva T. V., Zuev E. V., Stetsyuk S. N.

N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Industry of RAAS, St. Petersburg, Russia,
e-mail: riginbv@mail.ru

Summary

Powdery mildew resistance of 533 spring wheat accessions (*Triticum aestivum* L.) was evaluated at the adult plant phase. Durable resistance to powdery mildew has been demonstrated by Omskaya 18 k-58220; Line IT-3 k-50849; Canon k-61222; Dragon k-61515; Dacke k-63479; Sunnan k-58177; Atson k-41993; Ask-34982; line I Sr5-Rb k-54868. Changes in the *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin population in the Leningrad Province have been monitored from 1980 through 2012.

Key words: wheat, powdery mildew, virulence, population.

Введение

Мучнистая роса пшеницы, вызываемая грибом *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin (Bgt), является одной из наиболее распространенных вредоносных болезней пшеницы и преобладает в районах с прохладным влажным климатом. Заболевание мучнистой росой можно определить по мучнистому налету, образованному мицелием и конидиеносцами на поверхности листьев, а на более поздних стадиях – по сферическим темным плодовым телам, развивающимся на сплетениях мицелия. При заражении изменяется физиология больных растений. В результате усиленной транспирации возрастают потери воды на единицу площади листовой поверхности. Ослабевает фотосинтез, активизируются процессы дыхания. Сильное поражение мучнистой росой приводит к снижению числа и веса зерновок, их качества. Потери урожая зерна пшеницы в период эпифитотий могут достигать 34% (Кривченко и др., 2008). В этих условиях наиболее результативным является создание непоражаемых этой болезнью сортов пшеницы. К сожалению, устойчивость растений ограничена во времени из-за появления биотипов гриба с новой вирулентностью, которые способны захватить

большие площади посевов злаковых культур. Поэтому необходимым этапом селекции является постоянный поиск новых эффективных генов устойчивости к болезни и внедрение их в перспективные сорта.

Первые сообщения о наследовании устойчивости пшеницы к мучнистой росе сделаны Р. Биффеном (Biffen, 1907) и Н. И. Вавиловым (Вавилов, 1964). Исследователи отмечали сильное поражение мучнистой росой первого поколения гибридов, а во втором поколении наблюдали расщепление растений на устойчивые и восприимчивые в отношении 1:3. Другими авторами выявлены доминантные гены устойчивости к мучнистой росе. Большой вклад в развитие генетики устойчивости пшеницы к мучнистой росе внес американский исследователь Л. И. Бриггл (L. W. Briggles). Им создана серия изогенных линий сорта Chancellor, каждая из которых отличается одним определенным геном устойчивости: *Pm1*, *Pm2*, *Pm3a*, *Pm3b*, *Pm3c* и *Pm4* (Briggles, 1969). Использование таких линий позволило идентифицировать новые гены устойчивости, изучить их взаимодействие с генами вирулентности мучнисторосяного гриба, определить число локусов вирулентности и выяснить механизмы устойчивости пшеницы к заболеванию.

Первая работа по локализации в хромосомах гена мягкой пшеницы, контролирующего устойчивость к мучнистой росе, проведена американским исследователем Е. Р. Сирсом (Sears, 1953). С помощью нуллисомного анализа он определил локализацию гена *Pm1*, контролирующего устойчивость сорта Axminster, в длинном плече хромосомы 7A. В дальнейшем, на основании анализа большого числа сортов и селекционных линий, идентифицировано еще более 40 генов, контролирующих реакцию растений на заражение Bgt.

Все изученные гены, определяющие устойчивость к заболеванию, доминантные. Исключение составляют лишь несколько рецессивных генов *pm5*, *pm9*, *pm26* и *pm42*. Гены устойчивости *Pm1a*, *Pm3a*, *Pm3b*, *Pm3c*, *Pm3d*, *Pm3f*, *Pm3g*, *Pm5b*, *Pm5c*, *Pm5d*, *Pm9*, *Pm24*, *Pm28* принадлежат собственно геному мягкой пшеницы. Более половины генов устойчивости к мучнистой росе привнесены в геном мягкой пшеницы от родственных ей видов и родов. Источником генов *Pm1b*, *Pm1c* и *Pm4d* является диплоидный вид *Triticum monococcum* L., *Pm25* привнесен от *T. boeoticum* Boiss., *PmU* – от *T. urartu* Thum. От тетраплоидных видов трансгрессированы гены *Pm3d* (*T. durum* Desf.), *Pm16*, *Pm26*, *Pm30*, *Pm31*, *Pm36*, *Pm41*, *Pm42* (*T. dicoccoides* Körn.), *Pm4a*, *Pm5a* (*T. dicoccum* Schübl.), *Pm6*, *Pm27*, *Pm37* (*T. timopheevii* Zhuk.), *Pm4b*, *Pm33* (*T. carthlicum* Nevski), *Pm1d* (*T. spelta* L.). Перспективным источником эффективных генов устойчивости к мучнистой росе являются эгилопсы. Вид *Aegilops speltoides* Tausch. является донором гена *Pm12*, *Ae. tauschii* Coss. – *Pm19*, *Pm33*, *Pm34*, *Pm35*, *Ae. longissima* Schweinf. et Musehl. – *Pm13*, *Ae. ovata* – *Pm29*. От *Elytrigia intermedium* передан ген *Pm40* в линию мягкой пшеницы GRY19. От *Haynaldia villosa* (L.) Schur. передан ген *Pm21*, от *Secale cereale* L. – *Pm7*, *Pm8*, *Pm17*, *Pm20*. Доминантный ген *Pm43* перенесен в геном мягкой пшеницы от *Thinopyrum intermedium* (Heet al., 2009; Liet al., 2009; Luoet al., 2009).

Некоторые локусы являются сложными: *Pm1* (*Pm1a-Pm1e*), *Pm3* (*Pm3a-Pm3j*), *Pm4* (*Pm4a-Pm4c*), *Pm5* (*Pm5a-Pm5e*), *Pm8* (*Pm8a-Pm8b*). Гомеологичные группы 1 и 5 хромосом мягкой пшеницы играют ключевую роль в контроле устойчивости к мучнистой росе. Так, в гомеологичной группе 1 локализованы гены *Pm3* (10 аллелей *Pm3a-Pm3j*) и *Pm25* в хромосоме 1AS; *Pm17* – в 1A; *Pm10*, *Pm28* и *Pm39* – в 1B; *Pm10*, *Pm22* и *Pm24* – в 1D. В 5 гомеологичной группе локализованы гены *Pm23* (в хромосоме 5A), *Pm30* (5BS), *Pm36* (5BL), *Pm2* (5DS), *Pm34* и *Pm35* (5DL). Длинное плечо 7AL содержит гены *Pm1*, *Pm9*, *Pm37* и *PmU*. Среди них *Pm1* – сложный локус с аллелями *Pm1a-Pm1e*, причем *Pm1a*, *Pm1b* и *Pm1e* принадлежат геному *T. aestivum*, *Pm1c* передан от *T. monococcum*, *Pm1d* – от *T. spelta*. В хромосоме 6B определены 5 генов

устойчивости: *Pm12* (*Ae. speltooides*), *Pm13* (*Ae. longissima*), *Pm20* (*S. cereale*), *Pm21* (*H. villosa*) и *Pm27* (*T. timopheevii*) (Hsam et al., 2002; Hao et al., 2008; Nematollahi et al., 2008).

Не все гены устойчивости к мучнистой росе широко используются в селекции мягкой пшеницы. Многие из них несут большое количество чужеродного хроматина, отрицательно влияющего на продуктивность растений. К ним относятся такие высокоэффективные гены, как *Pm12* (от *Ae. speltooides*), *Pm13* (от *Ae. longissima*), *Pm16* (от *T. dicoccoides*) (Song et al., 2007).

Результатом широкого использования ограниченного числа *Pm*-генов явилось преобладание в популяциях Bgt клонов с вирулентностью к генам *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a-d*, *Pm4a-b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, *Pm9*, которые ранее обеспечивали высокую устойчивость к мучнистой росе.

По литературным сведениям, сорта мягкой пшеницы Финляндии преимущественно защищает ген *Pm4b*, в устойчивых сортах Дании преобладают *Pm5* и *Pm6*. Селекционеры Швеции эффективно используют гены устойчивости *Pm1a*, *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, *Pm9*, Норвегии – *Pm4b*, *Pm5*. В устойчивом к мучнистой росе сорimente Китая встречаются гены *Pm2*, *Pm4a*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8* (Hysing et al., 2007).

Опираясь на вышеизложенное, мы попытались оценить разнообразие мягкой пшеницы по признаку устойчивости к мучнистой росе и выделить наследственные варианты с эффективными генами в условиях России.

Материал и методы

В исследовании были использованы 533 образца яровой мягкой пшеницы коллекции ВИР. Инокулюмом явилась популяция гриба Bgt, собранная с восприимчивых растений пшеницы, выращенных в поле в условиях северо-запада Европейской части России. Популяцию гриба-возбудителя мучнистой росы анализировали с использованием изогенных и тест-линий мягкой пшеницы.

Оценку заболевания растений в фазе проростков проводили при искусственном заражении популяцией гриба согласно методическим указаниям (Кривченко и др., 2008). Выращивание растений и инкубирование на них гриба проводили на светоустановке при 12 ч. со светом и температурой 16°C; 12 ч. без света, при температуре 13°C. Семидневные проростки заражали путем стряхивания конидий с сильно пораженных мучнистой росой растений пшеницы. Через 7 дней после инокуляции определили степень поражения первого листа, используя качественную шкалу Е. Б. Майнса и С. М. Дитца (Mains, Dietz, 1930). К классу устойчивых относили растения, поражение которых не превышало 1 балл, умеренно устойчивых – 2 балла, восприимчивыми считали растения с поражением 3 и 4 балла.

Взрослые растения оценивали в поле на естественном фоне заражения грибом в фазе колошения и цветения по шкале Смилякович и др. (Кривченко и др., 2008): 0 – отсутствие поражения; 1 – очень слабое поражение в виде мелких подушечек или слабого налета на листьях или междоузлиях нижнего яруса; 2 – умеренное количество подушечек на нижнем ярусе; 3 – среднее поражение: массовое развитие подушечек главным образом на нижнем ярусе, на верхнем ярусе отдельные рассеянные пятна; 4 – сильное поражение: подушечки по всему стеблестоя, иногда поражается колос.

Результаты и обсуждение

Результатом широкого использования ограниченного числа генов устойчивости является преобладание в популяциях мучнисторосяного гриба клонов с соответствующей вирулентностью. Способность патогена приспосабливаться к новым условиям и образовывать расы с новой вирулентностью является главной проблемой в создании сортов мягкой пшеницы с длительной устойчивостью.

Поиск устойчивых к мучнистой росе образцов *T. aestivum* дал возможность кратко охарактеризовать изменения в популяции Bgt в условиях Ленинградской обл. (г. Пушкин) за период 1980–2010 гг. В этих экспериментах использовали серию изогенных линий сорта Chancellor, тест-сорта и линии с известными генами устойчивости – *Pm1*, *Pm2*, *Pm3a-d*, *Pm4a*, *Pm5a*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*, *Pm9*, *Pm12*, *Pm16*, *Pm19*. Популяцию возбудителя мучнистой росы собирали с сильно пораженных растений мягкой пшеницы. После инокуляции сортов-дифференциаторов оценивали реакцию проростков по 5-бальной шкале. Результаты мониторинга представлены в таблице.

**Реакция тест-сортов и линий мягкой пшеницы на заражение популяцией
B. graminis f. sp. *tritici* в фазе проростков**

Сорт, линия	Гены <i>Pm</i>	Лока- лиза- ция	Источник устойчивости	80-е гг.	90-е гг.	2001– 2010-е гг.	2012 г.	Частота вирулентных клонов (Европа, 90-е гг.), %**
Axminster/8Cc	<i>Pm1a</i>	7AL	<i>T. aestivum</i>	S*	S	S	S	90
Ulka / 8Cc	<i>Pm2</i>	5DS	Не известен	S	S	S	S	32–100
Asosan / 8Cc	<i>Pm3a</i>	Pm3a	<i>T. aestivum</i>	S	S	S	S	40–60
Chul / 8Cc	<i>Pm3b</i>	1AS	<i>T. aestivum</i>	S	S	S	S	Нет данных
Sonora / 8Cc	<i>Pm3c</i>	1AS	<i>T. aestivum</i>	S	S	S	S	Нет данных
Khapli / 8Cc	<i>Pm4a</i>	2AL	<i>T. dicoccum</i>	R*	S	S	S	Нет данных
Armada	<i>Pm4b</i>	2AL	<i>T. carthlicum</i>	R	S	S	S	80–100
Hope	<i>Pm5</i>	7BL	<i>T. dicoccum</i>	S	I*	S	S	78–100
Tp114/2 Starke	<i>Pm6</i>	2BL	<i>T. timopheevii</i>	R	R	S	S	74–100
Transec	<i>Pm7</i>	4BS·4 BL- 2RL	<i>S. cereale</i>	R	R	S	S	Нет данных
Disponent	<i>Pm8</i>	1BL·1 BS	<i>S. cereale</i>	R	S	S	S	До 100
Normandie	<i>Pm1</i> + 2+9	7AL	<i>T. aestivum</i>					
Wembley 14.3 1	<i>Pm12</i>	6BS- 6BS·6 SL	<i>Ae. speltoides</i>	–	R	R	R	Нет данных
BRG 3N	<i>Pm16</i>	5BS	<i>T. dicoccoides</i>	–	R	R	S	0
Amigo	<i>Pm17</i>	1AL·1 RS	<i>S. cereale</i>	–	–	S	S	S – пророст.; R – взрослые
XX186	<i>Pm19</i>	7D	<i>Ae. tauschii</i>	–	R	R	S	R – пророст.; S – взрослые

*S – восприимчивость; R – устойчивость; I – промежуточная реакция.

**данные S. H. K. Hsam, F. J. Zeller, 2002.

Согласно наблюдениям, гены *Pm1a*, *Pm2* и *Pm3a-c* не были эффективными для защиты растений от поражения грибом с 70-х годов прошлого века, т. е. популяция Bgt имела вирулентные клоны к этим факторам. Широкое использование гена *Pm1* в сортах пшеницы было предопределено тесным сцеплением с ним генов *Lr20* и *Sr15*. Ген *Pm2* широко распространен в европейских сортах пшеницы в сочетании с *Pm4* и *Pm6*, которые в то время были высокоэффективны ко многим популяциям Bgt и интенсивно использовались в селекции на устойчивость к мучнистой росе. Изогенные линии сорта Chancellor с *Pm3a*, *Pm3b* и *Pm3c* также из года в год поражаются болезнью.

Вирулентность к *Pm3d* была достаточно низкой до 2000 г., однако, в настоящее время поражаемость грибом сорта Kolibri с *Pm3d* составляет 2–3 балла. Единичные хорошо развитые пустулы Bgt на сорте Weihenstephan M1 (*Pm4b*) были замечены нами в середине 70-х гг. Причиной появления биотипов с вирулентностью к *Pm4b* также явилось широкое использование *Pm4* в селекции озимой и яровой пшеницы. В нашей работе генетический анализ выявил наличие эффективной аллели *Pm4* у 10 из 20 исследованных устойчивых сортов шведской селекции (Лебедева, 2005). Реакция на заражение линий с генами *Pm5a* и *Pm9* (сорт Normandie, *Pm1* + *Pm2* + *Pm9*) зависит от инфекционной нагрузки и температурных условий проведения опыта.

Тесное сцепление гена *Pm6* и гена, контролирующего устойчивость к стеблевой ржавчине, наблюдали в линиях CI 12632 и CI 12633, производных от *T. timopheevii* Zhuk. Сорта с *Pm6* были популярны во многих странах и занимали достаточно большие площади. Линии оставались устойчивыми в наших опытах до конца 90-х годов прошлого века. Продолжительное использование гена *Pm6* привело к увеличению соответствующей вирулентности в популяции Bgt. В настоящее время растения пшеницы с доминантным геном *Pm6* не защищены от поражения грибом на всех фазах онтогенеза.

Кроме генов *Pm4* (от *T. carthlicum* Nevski) и *Pm6* (*T. timopheevii*) высокую эффективность имели гены *Pm7* и *Pm8*, интрогрессированные в геном мягкой пшеницы от ржи *Secale cereale* L. В настоящее время у сортов Salzmünder 14/44, Zorba и Кавказ (*Pm8*) поражаются грибом не только листья, но и колосья. Линия Transec (*Pm7*) умеренно восприимчива к болезни при заражении проростков. Серия яровых (ИЛ1–ИЛ4) и озимых (ИЛ7–ИЛ16) линий мягкой пшеницы, созданная с привлечением различных форм октоплоидных тритикале, характеризовалась высокой устойчивостью к мучнистой росе на всех этапах развития. В настоящее время грибок сильно поражает эти растения (3–4 балла). Гены, контролирующие устойчивость к болезни этих растений, по данным генетического анализа отличны от *Pm7* и *Pm8*. Наши опыты с интрогрессивными, дополненными и замещенными линиями пшеницы, а также тритикале различной ploидности показали, что отдельные хромосомы ржи или их сегменты не обеспечивают иммунитет пшеницы к мучнистой росе (Лебедева, 2005).

Ранее выделенная по устойчивости к мучнистой росе линия мягкой пшеницы XX 186 (*Pm19* от *Aegilops tauschii* Coss.) в наших опытах сильно поражается на стадии проростков (4 балла); поражение линии Amigo с *Pm17* составляет 2 балла. Два года назад мы заметили пустулы на прежде устойчивой линии BRG3N с геном *Pm16*, производной от *T. dicoccoides* Körn. От *Ae. speltoide*s Tausch. передан в геном мягкой пшеницы ген *Pm12*. Линия Wembley 14.31 (*Pm12*) в настоящее время эффективно защищена от поражения Bgt на всех этапах развития в условиях г. Пушкина.

Таким образом, в 70–80-е гг. в условиях Ленинградской обл. (г. Пушкин) популяция Bgt уже поражала сорта с генами устойчивости *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a-c*, *Pm4a*, *Pm8*. С 90-х годов зарегистрированы клоны, вирулентные к *Pm6* и *Pm7*. Отмечено поражение сортов Kolibri (*Pm3d*) и Amigo (*Pm17*). В настоящее время в популяции Bgt присутствуют клоны, вирулентные к генам устойчивости *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a-d*, *Pm4a*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*, *Pm9*, *Pm16*, *Pm17*, *Pm19*, и авирулентные к *Pm12*.

Степень поражения мучнистой росой 533 образцов пшеницы разного происхождения оценивали на естественном фоне в фазу колошения–цветения растений. Погодные условия лета 2012 г. способствовали хорошему развитию болезни. Коллекция яровой пшеницы включала образцы разных стран. В основном они относились к сорtimentам России (71 образец), Австралии (40), США (39), Канады (27), Китая (50), Индии (26), Мексики (20), Швеции (88), Финляндии (54), Норвегии (30). Сорtimentы других стран были представлены 1–10 образцами.

Среди этой коллекции устойчивыми в фазе колошения–цветения оказались следующие образцы:

- к-58220 Омская 18, к-50849 Линия ИТ-3, к-64649 Лютесценс 13, к-64656 485ae5, к-64657 393ae9-1, к-64997 Воевода, к-64998 Фаворит, к-65144 Августина, к-65145 Волхитка, к-65137 Сударушка, к-65247 Тюменская 29, к-65139 Саратовская 74 (Россия);
- к-64211 Excalibur, к-64212 Angus, к-64214 Cascades (Австралия);
- к-60843 BR4, к-60846 BR7 (Бразилия);
- к-65003 Rubbi, и-145686 Naxos (Германия);
- к-28667 (Китай);
- к-34892 As (Норвегия);
- к-54868, к-54882 (США);
- к-65147 Скороспелка 98, к-65148 Срібнянка, к-65149 Харьковская 30, к-65150 Ажурная, к-65151 Торчинська, к-65257 Вышиванка (Украина);
- к-61222 Canon, к-61515 Dragon, к-63479 Dacke, к-58177 Sunnan, к-41993 Atson, к-64433 SW Vals, к-64434 SW Milljet, к-64436 SW Variett (Швеция).

Остальные изученные образцы яровой пшеницы обладали умеренной и высокой восприимчивостью к мучнистой росе.

Некоторые образцы из России и Швеции были устойчивы и в проростках, и во время колошения. К ним относятся сорта Самарского НИИСХ им. Н. М. Тулайкова: к-64649 Лютесценс 13, к-64656 линия 485ae5, к-64657 линия 393ae9-1; сорта шведской селекции: к-64433 SW Vals, к-64434 SW Milljet, к-64436 Vinjett. Устойчивость сорта Лютесценс 13 определяет ген *PmKu*, переданный в генотип яровой мягкой пшеницы от *T. spelta* ssp. *kuckuchkianum*. По литературным данным *T. spelta* var. *duhamelianum* несет ген *Pmld*. Линия 485ae5 имеет в родословной сорт Wembley 14.31, высокую устойчивость которого определяет доминантный ген *Pm12* от *Ae. speltoides*. Линия 485ae5 более скороспелая, чем Wembley 14.31, и ее удобнее использовать в генетическом анализе в качестве тестера *Pm12*. Невосприимчивость к мучнистой росе Лютесценс 393ae 9-1 контролирует рецессивный аллель гена *PmSp* (Вьюшков и др., 2008). Родословная шведского сорта Vinjett – Tjalve M14/Tjalve M15//Canon. По литературным данным устойчивость этого сорта к Bgt контролируют гены *Pm4+Pm6+u* (*u* – unidentified) (Hysing et al., 2007).

Анализ реакции пшеницы на заражение мучнистой росой показал, что в течение ряда лет в условиях Ленинградской области сохраняют полевую устойчивость следующие образцы:

- сорт Омская 18 к-58220 (Омская обл.) – с 1987 г.;
- линия ИТ-3 к-50849 (Ленинградская обл.) – с 1977 г.;
- Canon к-61222 (Швеция) – с 1993 г.;
- Dragon к-61515 (Швеция) – с 1993 г.;
- Dacke к-63479 (Швеция) – с 1999 г.;
- Sunnan к-58177 (Швеция) – с 1986 г.;
- Atson к-41993 (Швеция) – с 1967 г.;
- As к-34982 (Норвегия) – с 1962 г.;
- line I Sr5-Rb к-54868 (США) – с 1981 г.

По данным отдела генетических ресурсов пшеницы ВИР, сорта Омская 18 к-58220 (Омская обл.) и Dacke к-63479 (Швеция) обладают полевой устойчивостью к мучнистой росе в условиях Ленинградской и Тамбовской областей. Образец line I Sr5-Rb к-54868 (США) устойчив в полевых условиях Ленинградской и Московской областей. Шведские сорта Canon (к-61222) и Dragon (к-61515) не поражались мучнистой росой в Ленинградской, Тамбовской и Московской областях.

В последнее время значительное внимание уделяют неспецифической устойчивости взрослого растения. Частичная или неспецифическая устойчивость наследуется как количественный признак. Гены, определяющие такую устойчивость, влияют на все признаки проявления болезни: уменьшают размер и число пустул,

количество спор на пустулу. Сорта с таким типом резистентности культивируют многие годы без потери устойчивости к болезни. Так, сорта Кнох62 и Massey занимают в США довольно большие площади и стабильно сохраняют непоражаемость мучнистой росой не один десяток лет. Таким типом устойчивости обладают сорта Torno (Швейцария), RE714 (Франция), Fukuho-komugi (Япония), Foke (Швеция), Nahos (Германия). Чаще всего главные гены, контролирующие этапы проявления такого типа устойчивости, связаны с хромосомами 1AS, 1BL, 2BL и 7DS (Lu et al., 2012).

Заключение

Изучена устойчивость к мучнистой росе 533 образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различного происхождения. Выделены образцы, не поражаемые мучнистой росой в период колошения–цветения. Отмечены сорта и линии мягкой пшеницы, сохраняющие полевую устойчивость с 90-х годов прошлого века: Омская18 (к-58220); Линия ИТ-3 (к-50849); Canon (к-61222); Dragon (к-61515); Dacke (к-63479); Sunnan (к-58177); Atson (к-41993); As (к-34982); line I Sr5-Rb (к-54868). Проведен мониторинг изменений в популяции гриба *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Golovin Ленинградской обл. за 1980–2012 гг. В настоящее время в популяции Bgt присутствуют клоны, вирулентные к генам *Pm1a*, *Pm2*, *Pm3a-d*, *Pm4a*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*, *Pm9*, *Pm16*, *Pm17*, *Pm19* и авирулентные к *Pm12*.

Литература

- Вавилов Н. И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям // Вавилов Н. И. Избр. труды. М.–Л.: Наука, 1964. Т. 4. С. 132–300.
- Вьюшков А. А., Мальчиков П. Н., Сюков В. В., Шевченко С. Н. Селекционно-генетическое улучшение яровой пшеницы // Известия Самарского научного центра РАН. Самара, 2008. 536 с.
- Кривченко В. И., Лебедева Т. В., Пеуша Х. О. Мучнистая роса злаков // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам: Методическое пособие / под ред. Е. Е. Радченко. М.: Россельхозакадемия, 2008. С. 86–105.
- Лебедева Т. В. Генетика устойчивости пшеницы к мучнистой росе // Идентифицированный генофонд растений и селекция / под ред. Б. В. Ригина и Е. И. Гаевской. СПб.: ВИР, 2005. С. 527–543.
- Biffen R. Studies in the inheritance of disease resistance // J. Agric. Sci. 1907. V. 2. № 2. P. 105.
- Briggle L. W. Near isogenic lines of wheat genes for resistance to Erysiphe graminis f. sp. tritici // J. Agric. Sci. 1969. V. 9. № 6. P. 70–72.
- Hao J. F., Liu A. F., Wang J. H., Feng D. S., Gao J. R., Li X. F., Liu S. B., Wang H. G. Pm23: a new allele of Pm4 located on chromosome 2AL in wheat // Theor. Appl. Genet. 2008. V. 117. № 8. P. 1205–1212.
- He R., Chang Z., Jang Z., Juan Z., Zhan H., Zhang H., Liu J. Inheritance and mapping of powdery mildew resistance gene Pm43 introgressed from Thinopyrum intermedium into wheat // Theor. Appl. Genet. 2009. V. 118. № 6. P. 1173–1180.
- Hsam S. L. K., Zeller F. J. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // The Powdery mildews. A comprehensive treatise. Ed. by Bélanger Richard R., Bushnell William R., Dik Aleid J. and Carver Timothy L. W. APS press. Minnesota, 2002. P. 219–238.
- Hysing S. -C., Merker A., Ziljerth E., Koebner R. M. D., Zeller F. J., Hsam S. L. K. Powdery mildew resistance in 155 Nordic bread wheat cultivars and landraces // Hereditas. 2007. V. 144. № 3. P. 102–119.
- Li G., Fang T., Zhang H., Xie C., Jang T., Sun Q., Liu Z. Molecular identification of a new powdery mildew resistance gene Pm41 on chromosome 3BL derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*) // Theor. Appl. Genet. 2009. V. 119. № 3. P. 531–539.

- Lu Q., Bjornstad A., Ren J., Asad M. A., Xia X., Chen X., Ji F., Shi J., Lillemo M.* Partial resistance to powdery mildew in German spring wheat “Naxos” is based on multiple genes with stable effects in diverse environments. // *Theor. Appl. Genet.* 2012. V. 125. № 2. P. 297–309.
- Luo P. G., Luo H. J., Chang Z. J., Zhang H. J., Zhang M., Ren Z. L.* Characterization and chromosomal location of Pm40 in common wheat: a new gene for resistance to powdery mildew derived from *Elytrigia intermedium* // *Theor. Appl. Genet.* 2009. V. 118. № 6. P. 1059–1064.
- Mains E. B., Dietz S. M.* Physiologic form of barley mildew *Erysiphe graminis* DC // *Phytopathology.* 1930. V. 20. № 3. P. 229–239.
- Nematollahi G., Mohler V., Wenzel G., Zeller F. J., Hsam S. L. K.* Microsatellite mapping of powdery mildew resistance allele Pm5d from common wheat line IGV1-455 // *Euphytica.* 2008. V. 159. № 3. P. 307–313.
- Sears E. R.* Nullisomic analysis of common wheat // *Amer. Nat.* 1953. V. 87. P. 245–252.
- Song W., Xice H., Liu Q., Xice C. J., Ni Z. F., Jang T. M., Sun Q. X., Liu Z. Y.* Molecular identification of Pm12 – carrying introgression lines in wheat using genomic and EST-SSR markers // *Euphytica.* 2007. V. 158. № 1–2. P. 95–102.

ГЕНОФОНД И СЕЛЕКЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЛЯМ*

Е. Е. Радченко

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Eugene_Radchenko@rambler.ru

Резюме

Обсуждаются результаты изучения устойчивости генетических ресурсов пшеницы и сорго к злаковым тлям. И большие, и малые гены устойчивости зерновых культур к тлям дифференциально взаимодействуют с насекомыми. Следовательно, целесообразная селекция зерновых культур на устойчивость к тлям предусматривает расширение генетического разнообразия возделываемых сортов. В зависимости от особенностей культуры удельное значение того или иного способа расширения разнообразия может быть различным: для пшеницы – это, прежде всего, интрогрессия, для сорго – поиск устойчивых форм среди культивируемых видов. Идентифицированы новые гены устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле, которые предлагаются для использования в селекции.

Ключевые слова: пшеница, сорго, тли, устойчивость.

CEREAL CROPS GENEPOOL AND BREEDING FOR APHID RESISTANCE

E. E. Radchenko

N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: Eugene_Radchenko@rambler.ru

Summary

The results of research on wheat and sorghum genetic resources resistance to cereal aphids are discussed. Both major and minor genes for aphid resistance in cereals differentially interact with insects. Therefore, the most rational grain crops breeding for aphid resistance provides for increasing genetic diversity of cultivated varieties. The share of either way of increasing the diversity depends on crop features. For wheat, it is primarily introgression of resistance from wild relatives, while for sorghum it is the search for resistance within the global collection of cultivated species. The newly identified genes for greenbug resistance in sorghum are offered for breeding practice.

Key words: wheat, sorghum, aphids, resistance.

Интенсификация сельского хозяйства неизбежно приводит к генетической однородности сортов возделываемых культур, которая, в свою очередь, способствует адаптивной микроэволюции вредных насекомых. Для злаковых тлей характерно дифференциальное взаимодействие с генотипами хозяина. Внутривидовые формы (биотипы) насекомых различаются по вирулентности, т. е. по способности успешно питаться на устойчивых ранее сортах. В результате распространения новых биотипов насекомых актуальной становится проблема, связанная с преодолением ими устойчивости растений. Это касается практически всех экономически важных видов тлей – обыкновенной злаковой *Schizaphis graminum* Rond. (Dahms, 1948), ячменной *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Nkongolo et al., 1989), большой злаковой *Sitobion avenae* F. (Радченко, 1987), кукурузной *Rhopalosiphum maidis* Fitch. (Wilde, Feese, 1973) и обыкновенной черемуховой *Rhopalosiphum padi* L. (Радченко, 1993). Наиболее

* Работа частично финансировалась РФФИ (грант № 12-04-00710).

обстоятельно исследована внутривидовая изменчивость самых вредоносных видов – *S. graminum* и *D. noxia*. Для предотвращения массового размножения насекомых необходимо выращивать сорта с разными генами устойчивости.

Исследовали наследственное разнообразие рода *Triticum* L. по признаку устойчивости к большой злаковой и обыкновенной черемуховой тлям. Работу выполняли в Пушкинских лабораториях ВИР, на Дагестанской (ДОС ВИР) и Екатеринбургской (ЕОС ВИР) опытных станциях ВИР, в Узбекском НИИ растениеводства (Уз.ИР) и Узбекском НИИ зерна (Уз.НИИ зерна). На естественном и провокационном фонах заселения в поле злаковыми тлями с помощью балловых шкал (Радченко, 2008) изучили устойчивость 2616 образцов мягкой (*Triticum aestivum* L.) и 1911 образцов твердой (*T. durum* Desf.) пшеницы. Исследовали устойчивость видового разнообразия пшениц, в частности, устойчивость редких видов, которые представлены в системе рода *Triticum*, принятой в отделе генетических ресурсов пшеницы ВИР (Дорофеев и др., 1979). Оценили заселенность *S. avenae* 1043 образцов в условиях Дагестана и Узбекистана. На посевах Пушкинских лабораторий ВИР изучили устойчивость к *R. padi* коллекции *T. monosocum* L. и *T. dicocum* (Schrank) Schuebl., а также образцов некоторых других видов пшеницы. В лабораторных условиях исследовали типы устойчивости (Пайнтер, 1953) пшеницы к тлям – антиксеноз (отвергание растений при возможности выбора насекомым) и антибиоз (неблагоприятное воздействие растения на насекомое при питании).

В условиях севера Центральной Черноземной зоны России (ЕОС ВИР) выделено 23 образца яровой мягкой пшеницы, слабо заселяемых *R. padi*, 6 – *S. avenae* и 7 образцов с групповой устойчивостью к данным видам. Оценка антибиоза в фазе всходов ряда слабо заселявшихся обыкновенной черемуховой тлей образцов к клону, выделенному из северо-западной популяции насекомого, показала, что наиболее высокой устойчивостью обладает сорт Дельфи 400 (к-54046, Казахстан). Все образцы, слабо заселявшиеся *R. padi* на ЕОС ВИР, были изучены по антибиозу к клонам тли, выделенным из узбекской (Уз.НИИ зерна) популяции. В двух независимых опытах образцы обладали достаточно высоким антибиозом, однако статистически достоверное различие с Дельфи 400 не выявлено только для сорта ELS (к-43578, Норвегия). Слабая заселенность остальных сортов вредителем в полевых условиях обусловлена или «уходом» данных форм от заселения тлей, или генами устойчивости, действующими на более поздних этапах органогенеза растений. Возможно также, что популяции *R. padi* в Центральном районе Черноземной зоны и в Узбекистане различаются по вирулентности.

Кроме антибиоза, оценили также антиксеноз сорта Дельфи 400 и образцов различных видов пшеницы, контрастных по степени заселенности тлей в условиях ДОС и ЕОС ВИР. Результаты опытов показали, что образцы, обладающие высоким антибиозом (Дельфи 400, *T. monosocum*, *T. kiharae* Dorof. et Migusch.), характеризуются и высоким антиксенозом. Устойчивость Дельфи 400 к фитофагу контролируется двумя генами (Радченко и др., 2007а). Оценка заселенности этого образца *R. padi* в различных эколого-географических зонах показала высокую эффективность генов устойчивости против европейских и азиатских популяций тли. Однако устойчивость к вредителю все же специфична: Дельфи 400 обладал антибиозом не ко всем клонам тли, выделенным из дагестанской популяции (Радченко, 1993).

В условиях Узбекистана в течение ряда лет слабо заселялись большой злаковой тлей 10 образцов озимой мягкой пшеницы: к-54120 (Украина), к-56380, к-56915, к-57250 (Чехия), к-51560 (Югославия), к-45140, к-57341, к-57344, к-57395, к-57404 (Япония). Практически все эти сорта являются скороспелыми. Очевидно, данное свойство, по крайней мере отчасти, может обуславливать устойчивость образцов к вредителю. Еще один скороспелый сорт яровой мягкой пшеницы Asakaze Komugi (к-59945, Япония) слабо заселялся на ДОС ВИР и в условиях Уз. ИР.

Исследование устойчивости коллекции *T. durum* в различных эколого-географических зонах России и в Узбекистане показало, что генофонд данного вида чрезвычайно беден устойчивыми формами. В условиях Дагестана и Центральной Черноземной зоны России не выявлено ни одного источника устойчивости к вредителям. В Уз. НИИ зерна выделили 2 образца озимой твердой пшеницы (к-57092, Украина; к-46906, Азербайджан) и 4 – яровой (к-35902, Азербайджан; к-46195, Италия; к-15057, Израиль; к-17122, Сирия).

В связи с относительной бедностью генофонда *T. aestivum* и *T. durum* устойчивыми формами возникает необходимость изучения дикорастущих видов пшеницы, пригодных для интрогрессивной селекции. Существенное достоинство интрогрессии генов устойчивости – уверенность, что источник данного гена еще не использовался в селекции. Результаты исследований показывают, что генофонд рода *Triticum* весьма разнообразен по устойчивости к большой злаковой тле. Суммировать полученные нами данные можно следующим образом.

Подрод *Triticum*. Секция *Urartu* Dorof. et A. Filat (геном Au) характеризуется наличием высокоустойчивых форм: заселенность колосьев *T. urartu* Thum. ex Gandil. в двух регионах очень низка.

Секция *Dicoccoides* Flaksb. (геном AuB) представлена преимущественно неустойчивыми видами пшеницы. Образцы *T. dicoccoides* (Koern. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf. относительно слабо заселяются тлей, однако вариабельность признака широка. Заселенность колосьев образцов *T. dicoccum* также варьировала в широких пределах. Европейские (subsp. *dicoccum*) и марокканские полбы (subsp. *maroccanum*) неустойчивы к тле. Среди восточных (subsp. *asiaticum*) и эфиопских (subsp. *abyssinicum*) полб есть относительно слабо заселяемые образцы: к-13635, к-13483, к-43872 (Армения), к-6391 (Азербайджан), к-14380 (Турция), к-19622 (Эфиопия) и др. Заселенность колосьев *T. karamyshevii* Nevski в Узбекистане была высока, в Дагестане – незначительна.

Голозерные тетраплоиды менее устойчивы к вредителю по сравнению с пленчатыми видами. Особенно сильно заселяются образцы, относящиеся к видам *T. turgidum* L., *T. jakubzineri* Udacz. et Schachm., *T. turanicum* Jakubz., *T. polonicum* L.. Исфаханская полба в Дагестане заселялась большой злаковой тлей незначительно, в условиях Узбекистана *T. ispahanicum* Heslot был неустойчив. *T. aethiopicum* Jakubz. неустойчив к *S. avenae*, причем заселенность колосьев не зависела от общей численности тли на коллекционных посевах. *T. persicum* Vav. близок по устойчивости к эфиопской пшенице. Можно отметить лишь один образец – к-6428 (Грузия) – относительно слабо заселявшийся в двух пунктах изучения.

Виды секции *Triticum* (геном AuBD), представленные формами спельты и голозерными гексаплоидами, в целом также неустойчивы к *S. avenae*. Образцы *T. macha* Decarp. et Menabde и *T. spelta* L. в наших опытах сильно заселялись тлей во всех зонах изучения. Заселенность *T. vavilovii* (Thum.) Jakubz. варьировала от слабой (ДОС ВИР) до высокой (Уз. ИР). Вероятно, за счет очень грубого колоса данный вид обладает некоторой устойчивостью, которая преодолевается в условиях массового размножения насекомого. *T. compactum* Host также относительно неустойчив к вредителю, особенно сильно заселялись растения в Уз. ИР. Можно выделить образец к-52640 (Узбекистан), проявивший устойчивость в Уз. НИИ зерна и на ДОС ВИР. Заселенность образцов *T. sphaerococcum* Perciv. в наших опытах была на среднем уровне. Следует отметить образцы к-5499 (Индия) и к-46453 (Пакистан), относительно устойчивые в Узбекистане и Дагестане. *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. в условиях ограниченной численности тли обладает устойчивостью к вредителю, которая не проявляется при массовом размножении насекомого.

Подрод *Boeoticum* Migusch. et Dorof. Виды пшеницы секции *Monococcum* Dum. (геном Ab) наиболее устойчивы к большой злаковой тле. На образце *T. boeoticum* Boiss.

к-28239 (Нахичевань) в течение ряда лет вредитель не был обнаружен в двух зонах изучения. *T. monosocum* в целом также устойчив к *S. avenae*, однако в условиях Дагестана отмечено значительное варьирование признака. Наиболее сильно заселялись образцы, относящиеся к горной западноевропейской и средиземноморской экологическим группам: к-40063, к-41931, к-46746 (Германия), к-20498 и к-21038 (Италия). Голозерный диплоид – *T. sinskajae* A. Filat. et Kurk. – возникший в результате спонтанной мутации у растений *T. monosocum* (к-20970) из Турции, менее устойчив к вредителю.

Секция *Timopheevii* A. Filat. et Dorof. (геномы AbG, AbAbG, AbAbGG, AuAbBG) представлена видами пшеницы, которые заселяются тлей преимущественно в слабой и средней степени. Для *T. araraticum* Jakubz., особенно в условиях Дагестана, характерно значительное варьирование степени заселенности колосьев тлей. Устойчивость к вредителю образцов предполагаемого донора генома G – *Aegilops speltoides* Tausch. также существенно варьировала. Курдистанский подвид араратской полбы (subsp. *kurdistanicum*) более устойчив по сравнению с араратским подвидом (subsp. *araraticum*). В Уз. НИИ зерна даже на жестком инвазионном фоне *T. araraticum* был относительно устойчив к вредителю.

Слабо заселяется большой злаковой тлей *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk., но в годы массового размножения численность насекомых на образцах данного вида значительно увеличивалась. Можно предположить, что устойчивость пшеницы Тимофеева утрачивается за счет наличия в природных популяциях тлей вирулентных к *T. timopheevii* клонов и их накопления в течение сезона. Об этом свидетельствуют и литературные данные. Так, американскими исследователями выявлен биотип KS-5 кукурузной тли, сильно повреждающий устойчивую ранее пшеницу Тимофеева (Wilde, Feese, 1973).

Голозерный тетраплоид *T. militinae* Zhuk. et Migusch., возникший в результате спонтанной мутации у *T. timopheevii*, заселялся тлей в средней степени. *T. zhukovskyi* Menabde et Migusch. в условиях Узбекистана слабо заселялся вредителем, а в Дагестане – это один из самых неустойчивых видов пшеницы, что мы связываем с дифференциальным взаимодействием продуцента и консумента (Радченко, 1987). *T. flaksbergeri* Navr. – аллооктоплоидный вид, полученный в результате гибридизации *T. militinae* и *T. persicum*, а также автооктоплоид пшеницы Тимофеева – *T. timonovum* Heslot et Ferrari заселялись вредителем в средней степени. Аллооктоплоидный вид *T. fungicidum* Zhuk., полученный экспериментально от скрещивания *T. timopheevii* с *T. persicum*, относительно неустойчив к *S. avenae*.

В секцию *Kiharae* Dorof. et Migusch. (геном AbGD) входят два устойчивых к большой злаковой тле гексаплоидных вида пшеницы. *T. kiharae* Dorof. et Migusch. создан при скрещивании *T. timopheevii* с *Ae. tauschii* Coss., а *T. miguschovae* Zhir. получен при спонтанной мутации у амфидиплоида *T. militinae* × *Ae. tauschii*. Очевидно, устойчивость обеспечивается за счет генома D от *Ae. tauschii*, заселенность насекомыми образцов которого в Дербенте была очень слабой.

Таким образом, анализ полиплоидного ряда пшеницы показал, что виды значительно различаются по частоте форм, устойчивых к большой злаковой тле. Определилась связь между устойчивостью и геномным составом пшеницы. Наиболее устойчивы к *S. avenae* диплоидные виды с геномами Au (*T. urartu*) и Ab (*T. boeoticum*, *T. monosocum*). Виды, относящиеся к секции *Timopheevii*, обладают определенной степенью устойчивости, которая преодолевается тлей. Геном D от *Ae. tauschii* обеспечивает высокую устойчивость к большой злаковой тле таких видов, как *T. kiharae* и *T. miguschovae*.

Вспышка массового размножения обыкновенной черемуховой тли на полях Пушкинских лабораторий ВИР в 1990 г. позволила оценить заселенность вредителем *T. monosocum* (93 образца) и *T. dicocum* (470 образцов), т. е. большую часть

коллекции этих видов пшеницы. В меньшей степени заселялись 16 образцов *T. monosocum*, в том числе и к-20634, у которого ранее были выявлены антибиоз и антиксеноз к *R. padi*. Среди образцов *T. dicocum* не обнаружены генотипы, характеризующиеся слабой заселенностью фитофагом, в несколько меньшей степени заселялись 18 образцов (преимущественно из Армении). Формы, устойчивые к *S. avenae* в Узбекистане и (или) Дагестане, обычно сильно заселялись *R. padi*, т. е. устойчивость к этим вредителям контролируется разными генетическими системами.

В лабораторных условиях оценивали антибиотическую устойчивость *T. monosocum* к обыкновенной злаковой тле. Из изученных 88 образцов культурной однозернянки достаточно высокий уровень антибиоза выявлен у 69 генотипов. Статистически не отличались от неустойчивого контроля (сорт озимой мягкой пшеницы из США ТАМ-105) преимущественно образцы из Закавказья и Германии.

Наши исследования подтверждают вывод Н. И. Вавилова о том, что «...групповой, или комплексный, иммунитет является вполне реальным фактом, широко распространенным в природе» (Вавилов, 1986). Так, выявлены образцы *T. monosocum*, сочетающие устойчивость к трем видам тлей. Литературные сведения также показывают, что *T. monosocum* обладает комплексной устойчивостью к целому ряду вредителей и болезней. По образному выражению Н. И. Вавилова, однозернянки являются «аккумуляторами комплексного иммунитета». Очевидно, интрогрессивная селекция должна стать наиболее эффективным способом создания высокоустойчивых к вредителям и болезням форм пшеницы.

Наиболее остра проблема генетической однородности сортов сорго. В России венгерский сорт Сарваши вовлекался в скрещивания с конца 60-х годов прошлого века в качестве единственного донора устойчивости к основному вредителю сорго – обыкновенной злаковой тле. Эксперименты показали, что Сарваши, а также доноры устойчивости, использовавшиеся в США, неэффективны в России.

В полевых условиях Кубанской опытной станции ВИР (КОС ВИР) изучили разнообразие рода *Sorghum* Moench по устойчивости к *S. graminum*. Лабораторные эксперименты выполнены в отделе генетики ВИР (С.-Петербург). Материал для исследований, полученный из отдела кукурузы и крупяных культур ВИР, представлен 5059 образцами, относящимися к четырем хозяйственным группам: зерновое, сахарное, веничное и травянистое сорго. Мы исследовали устойчивость к фитофагу стародавних и современных сортов и гибридов; образцов, выделившихся по ряду хозяйственно-ценных признаков; стерильных линий и их фертильных аналогов; образцов нового поступления в коллекцию. Первичным генцентром рода *Sorghum* является Африка, где обнаружено наибольшее разнообразие культивируемых и дикорастущих видов. Значительные площади сорго сосредоточены в Индии, Китае, США, Мексике, Аргентине. В наших опытах изучена устойчивость образцов из всех центров формообразования культуры, а также дикие виды сорго (110 образцов).

Поврежденность образцов в поле и в лабораторных условиях оценивали с помощью шкал. В лаборатории исследовали антибиоз и антиксеноз образцов сорго к вредителю с использованием наиболее распространенных методик (Радченко, 2008). Механизмы взаимодействия *S. graminum* и сорго подчиняются отношениям «ген для гена» (Puterka, Peters, 1995): каждому гену устойчивости хозяина соответствует специфичный ему ген вирулентности паразита. Гетерогенность краснодарской популяции тли позволила выявить клоны, различающиеся по вирулентности к ряду устойчивых форм («тест-клоны»), которые использовали для идентификации генов устойчивости. С помощью метода тест-клонов можно исключить у исследуемого образца гены устойчивости, эффективные только против части популяции тли. Если хотя бы один клон насекомого, авирулентный к тестеру данного гена устойчивости, повреждает изучаемый сорт, это означает, что сорт не имеет функционального аллеля данного гена. Для определения числа и характера взаимодействия генов,

контролирующих устойчивость, изучали расщепление в F2 и F3 от скрещивания устойчивых образцов с неустойчивыми стерильными линиями. Для определения аллельных отношений генов устойчивые образцы скрещивали между собой.

В результате изучения генофонда культивируемых видов сорго высокоустойчивые к обыкновенной злаковой тле образцы среди местных и современных селекционных сортов из Африки не выявлены. Обширный материал (свыше двух тысяч образцов), полученный из США, Индии и стран Латинской Америки, где сосредоточены наибольшие площади сорго, представлен в подавляющем большинстве неустойчивыми формами. Высокой устойчивостью к тле характеризовались, прежде всего, местные образцы хлебного сорго из Китая. Видимо, это связано, прежде всего, с давностью взаимоотношений насекомого и растения-хозяина: вероятный центр происхождения большинства современных групп тлей – горные районы Манчжурско-Китайской и Индийской подобластей, где обнаружена наиболее разнообразная афидофауна (Шапошников, 1967).

Н. И. Вавилов (1986) считал, что: «...иммунитет вырабатывается под влиянием естественного отбора только в тех условиях, которые содействуют развитию инфекции, и, как правило, выявляются только там, где имеется в наличии тот или другой паразит, в отношении которого отбор вырабатывает иммунитет». Подтверждают эту закономерность не только результаты изучения коллекции сорго, но и наши эксперименты с ячменем и овсом. Изучив 490 преимущественно местных форм ячменя из Китая, выделили 93 устойчивых к *S. graminum* образца, а среди 277 образцов овса из Приморского края, Монголии, Китая и Японии выявили 85 слабо повреждаемых *S. graminum* форм.

К сожалению, до сих пор не существует общепринятой классификации рода *Sorghum*. Систематика рода подвергалась беспримерной ревизии, причем разные исследователи выделяли от одного до нескольких десятков видов (Жуковский, 1971). Мы не можем с уверенностью судить об устойчивости видов сорго к *S. graminum* в силу того, что видовая принадлежность большинства изученных форм не определена. В большей степени обычно повреждались образцы, относящиеся к видам *S. guineense* Stapf, *S. nervosum* Besser., *S. caffrorum* Beauv., *S. nigricans* (Ruiz et Pavon) Snowd. Если рассматривать устойчивость к вредителю по хозяйственным группам, то наиболее сильно в полевых условиях повреждается сахарное сорго, несколько меньше – зерновое, далее следуют веничное и травянистое сорго. Однако в условиях вспышки массового размножения тли эти различия нивелируются. В то же время устойчивые образцы мы находили в пределах каждой из этих групп. Известно, что все культивируемые виды сорго скрещиваются между собой. Обычно фертильны и гибриды их с дикорастущими видами. Спонтанная интрогрессия, сопровождающаяся потоком новых генов в материнские растения и обратно, имела широкое распространение (Жуковский, 1971). Поэтому, на наш взгляд, поиск жесткой связи между видом и устойчивостью к вредителю в данном случае не имеет смысла.

Очень слабо в поле повреждался ряд форм хлебного сорго из Китая и образец к-1362 из Сирии. Мы изучили 46 образцов из Китая в контролируемых условиях. Высокой устойчивостью характеризовался 21 образец. Все выделенные формы чрезвычайно гетерогенны по изученному признаку, на что указывают высокие значения коэффициента вариации, и обычно четко дифференцированы на 2 фенотипических класса. Исключение составили к-831 и к-972 – для них характерен широкий спектр поврежденности. После двукратной жесткой браковки в фазе всходов отобрали устойчивые линии. Выделилась также группа образцов (преимущественно гаоян – национальная культура в Северо-Восточном и Восточном Китае) с характерной умеренной устойчивостью к тле.

В лаборатории изучали устойчивость 50 образцов, поврежденность которых в условиях КОС ВИР в течение ряда лет была очень низка. Достоверные отличия по

степени поврежденности от восприимчивого контроля выявили у 34 изученных форм. Все образцы гетерогенны по данному признаку, причем высокий уровень экспрессии устойчивости обнаружен лишь у шести образцов, устойчивость к вредителю остальных форм контролируется генами с более слабым фенотипическим проявлением. Нами получены устойчивые линии, выделенные из образцов Одесский 360 и Cherhata.

Суданская трава (*S. sudanense* (Piper) Stapf) – одна из основных злаковых кормовых культур, возделываемых на юге России. Благодаря скороспелости, холодостойкости в ювенильной фазе, засухоустойчивости, хорошим кормовым качествам, пригодности для сплошного посева, суданская трава и сорго-суданковые гибриды стали занимать все большие посевные площади. *S. sudanense* заселяется обыкновенной злаковой тлей обычно незначительно, однако в условиях вспышки массового размножения поврежденность большинства образцов существенно возрастает. На жестком инвазионном фоне очень четко выявляется гетерогенность по устойчивости к тле практически всех образцов суданской травы. В лабораторных условиях исследовали устойчивость к *S. graminum* 100 местных форм и стародавних сортов (всего в коллекции ВИР насчитывается около 400 образцов). Все образцы оказались в большей или меньшей степени гетерогенны по устойчивости к вредителю, лишь две изученные формы (к-88/1, Италия и к-123, Украина) характеризовались высокой поврежденностью. Выделили 25 гетерогенных образцов, у которых устойчивые компоненты защищены высокоэкспрессивными генами; 34 образца имеют гены устойчивости со слабым фенотипическим проявлением. Высокая частота устойчивых форм среди образцов суданской травы свидетельствует о перспективности использования этой культуры в селекции на иммунитет.

Известно, что дикие родичи могут играть важную роль в пополнении запаса генов устойчивости культивируемых растений к болезням и вредителям. В США до недавнего времени широко возделывались устойчивые к обыкновенной злаковой тле сорта и гибриды сорго, полученные с использованием *S. virgatum* (Hack.) Stapf. Мы изучили устойчивость к вредителю всей коллекции дикого сорго (110 образцов). Некоторые формы не удалось оценить вследствие их невсхожести. В результате выделено лишь 9 гетерогенных форм, устойчивые компоненты которых защищены генами, обуславливающими слабую поврежденность, 17 образцов имеют гены со слабым фенотипическим эффектом. Очевидно, донорами эффективных генов устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле могут служить только культивируемые виды.

Таким образом, интрогрессия генов устойчивости от дикорастущих видов сорго в настоящее время бесперспективна. В то же время выявлены высокоустойчивые формы среди культивируемых видов (прежде всего, хлебное сорго и суданская трава). Генофонд рода *Sorghum* характеризуется и широким распространением слабоэкспрессирующихся генов устойчивости. Все выделенные формы гетерогенны по изученному признаку.

Оценка различных типов устойчивости продемонстрировала, что слабо повреждаемые *S. graminum* образцы обладают и антибиозом, и антиксенозом к вредителю, причем уровень их проявления коррелирует со степенью повреждения, выраженной в баллах.

Исследование внутривидовой изменчивости тли показало, что образцы Сарваши, Deer, Shallu, к-1362 и к-9436 защищены разными генами устойчивости. Оценили поврежденность тест-клонами тли всей коллекции устойчивых форм. Образцы с устойчивостью от *S. virgatum* (Shallu и KS-30) защищены общим геном (генами). Вирулентность и авирулентность тли к образцам Сарваши, и-589430 (PI 264453, Испания) и к-457 (PI 264453, США) всегда совпадали, что также позволило предположить наличие общего гена устойчивости.

Клоном тли, вирулентным ко всем дифференциаторам, заселили 21 линию, которые выделены нами из гетерогенных по устойчивости образцов. Высокой устойчивостью обладали 19 линий, отобранных из образцов сорго, поступивших в коллекцию ВИР из Китая: кк-830, 831, 922, 923, 924, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 1206, 1237, 1238, 1239, 1241, 1243, 1251, 2588. Таким образом, гены устойчивости этих линий отличаются от использующихся в селекции (Сарваши, Deeg, Shallu), а также от генов образцов к-1362 Дурра белая и к-9436 Соргоградское. Линии, выделенные из образцов к-1240 (Джугара белая, Западный Китай), к-10092 (Одесский 360, Украина) и к-5091 (Cherhata, Марокко) сильно повреждались тлей этого клона.

В течение трех лет изучали устойчивость линии, выделенной из образца к-1240, ко всем имевшимся в нашем распоряжении клонам. Оказалось, что 169 клонов тли авирулентны к образцам к-1362 и к-1240; 7 клонов сильно повреждали оба образца. Подавляющее большинство клонов, вирулентных к образцам Сарваши, Соргоградское, Оранжевое 66, KS-30, Shallu и Deeg, практически не повреждали к-1240. Можно предположить, что гены устойчивости образца к-1240 отличаются от генов остальных образцов из Западного Китая и использующихся в селекции. В то же время поврежденность к-1240 и к-1362 клонами тли всегда совпадала, т. е., вероятно, гены устойчивости образцов к-1240 и к-1362 тождественны.

В результате многолетней работы идентифицировали гены устойчивости сорго к фитофагу. Доминантный (*Sgr1*) и рецессивный (*Sgr2*) гены устойчивости имеет образец к-457 (PI 264453, США). Ген *Sgr1* выявлен также у образцов и-589430 (PI 264453, Испания) и к-3852 (Сарваши, Венгрия). Предполагается, что эти формы имеют и ген *Sgr2*. Образцы к-9921 (Shallu, США) и к-9922 (KS-30, США) имеют неполностью доминантный ген устойчивости *Sgr3*. Доминантному гену образца к-6694 (Deeg, США) присвоен символ *Sgr4*. Доминантный (*Sgr5*) и рецессивный (*Sgr6*) гены выявлены у образцов к-1362 (Дурра белая, Сирия) и к-1240 (Джугара белая, Китай). Сорт Соргоградское (к-9436, Ростовская обл.) имеет ген *Sgr5*. Предполагается наличие генов *Sgr5* и *Sgr6* у образцов к-10092 (Одесский 360, Украина) и к-5091 (Cherhata, Марокко). Доминантным (*Sgr7*) и рецессивным (*Sgr8*) генами защищен образец к-924 (Джугара белая, Китай). По крайней мере, один из этих генов есть у образца к-923 (Джугара белая, Китай). У образца к-930 (Джугара белая, Китай) выявлены два доминантных комплементарных гена устойчивости (*Sgr9*, *Sgr10*). Одному из двух доминантных генов образца к-1237 (Джугара белая, Китай) присвоен символ *Sgr11*. Гены устойчивости *Sgr5–Sgr11* – новые, ранее не использовавшиеся в селекции (Радченко, 2000).

Анализировали также наследование устойчивости к краснодарской популяции обыкновенной злаковой тли у 9 форм зернового сорго и суданской травы. Доминантный ген образца Carbam (к-455, США), проявляющийся против отдельных клонов насекомого, отличается от идентифицированных ранее генов устойчивости *Sgr1–Sgr11* и обозначен символом *Sgr12*. Сорт Сарваши (к-3852, Венгрия), помимо доминантного гена *Sgr1*, защищен также рецессивным геном (очевидно, *Sgr2*) против отдельных клонов тли. Образцы зернового сорго к-928 и к-929 (Джугара белая, Западный Китай) имеют по 2 высокоэффективных доминантных гена устойчивости, отличающихся от генов *Sgr1 – Sgr4*, *Sgr6*, *Sgr9*, *Sgr10*. Гены устойчивости образца к-929 отличаются также от гена *Sgr5*. У образца к-928 выявлен третий доминантный ген устойчивости, экспрессирующийся против отдельных клонов тли. Этому гену присвоен символ *Sgr13*. Образцы суданской травы к-100 и к-122 (Украина) имеют по 2 доминантных гена устойчивости к насекомому; по одному доминантному и рецессивному гену устойчивости выявлено у образцов к-62, к-99 (Украина) и к-96 (Россия). Доминантные гены устойчивости сорта Одесская 25 (к-122), которые проявляются против части клонов из природной популяции тли, обозначены символами *Sgr14* и *Sgr15* (Радченко, 2006).

Гены устойчивости *Sgr1 – Sgr4* использовались ранее в селекции и неэффективны; частоты вирулентных к генам устойчивости *Sgr5* и *Sgr6* клонов в краснодарской популяции фитофага малы, а дифференциальное взаимодействие насекомого с образцами, имеющими гены *Sgr7 – Sgr11*, не обнаружено. В то же время гены устойчивости образцов к-1362 и к-9436 эффективны только против европейских популяций тли, а сорта Сарваши – только против азиатских.

Выявлены также образцы с эффективными генами устойчивости, которым пока еще не присвоены символы. Так, доминантный ген устойчивости к краснодарской популяции тли выявлен у образца к-1206; доминантным и рецессивным генами защищен образец к-1243. Аллельные отношения этих генов пока неизвестны. Устойчивый компонент гетерогенной линии А-278 несет доминантный ген, который контролирует умеренное проявление признака и независим от генов образца к-923 (Радченко, 1995; 2000).

Результаты экспериментов позволили выявить генетическую однородность доноров устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле, использовавшихся в селекционных программах России (Сарваши) и США (PI 264453). Еще один пример генетической однородности – общность контроля устойчивости у образцов к-1362, к-1240 и к-9436. Все образцы этой группы различаются по морфологическим и биологическим признакам: Соргоградское – современный сорт сахарного сорго, Джугара белая и Дурра белая – местные формы зернового сорго из Китая и Сирии. Таким образом, одни и те же гены устойчивости, не использовавшиеся в селекции целенаправленно, обнаруживаются в самом разнородном материале.

Запас генов устойчивости может быть существенно пополнен. Выделено 24 образца зернового и сахарного сорго, а также одна стерильная линия, гены устойчивости которых отличаются от генов тех образцов, которые использовались в селекционных программах России и США. Для 19 образцов из Китая специфическое взаимодействие с генотипами тли не выявлено, что особенно важно для селекции.

Необходимо подчеркнуть значение для селекции местных форм, собранных еще во времена первых экспедиций ВИР. Например, из более 23000 оцененных в 1980-е годы по устойчивости к *S. graminum* образцов сорго Т. L. Harvey с соавторами (1991) не нашли ни одной устойчивой к «сорговому» биотипу I формы. В наших экспериментах изучение гораздо меньшего объема коллекции позволило выявить свыше 20 высокоустойчивых образцов, причем 2 из них – к-1362 и к-924 (PI 550610 и PI 550607 соответственно), переданные американским коллегам, обладают антибиозом и антиксенозом к вредителю в США (Andrews et al., 1993; Bowling, Wilde, 1996) и активно используются в селекции.

Известно, что если устойчивость контролируется небольшим числом генов, в селекции целесообразно использовать метод беккроссов, который особенно удобен в случае, если недостатком ранее полученного сорта является восприимчивость к вредным организмам, и нет необходимости улучшать его по другим признакам. В результате многолетней работы получены частичные аналоги выведенных ранее сортов на базе двух доноров устойчивости – образцов к-924 (Китай) и к-1362 (Сирия). В качестве рекуррентных родителей использовали образцы зернового сорго Зерноградское 54, Урожайное 8, Кубанское красное 1677, Хегари 2259, Л-100. Так как устойчивость носит доминантный характер, проводили непрерывные насыщающие скрещивания. Всего было создано 9 новых доноров. Вместе с тем число полученных форм намного больше (свыше 400 линий F10 – F15 BC1 – BC2), что предоставляет возможность дальнейшего отбора устойчивых линий, превосходящих материнские формы и созданные ранее доноры устойчивости по ряду признаков. Создаются также устойчивые к фитофагу стерильные линии сорго и их фертильные аналоги. В этих экспериментах используются образцы к-928, к-929, к-1237 и стерильная линия

Низкорослое 81с. В настоящее время получили 2 донора и 350 линий F4 – F9 BC1 – BC2.

Образцы сорго с новыми генами устойчивости к *S. graminum* отвечают всем требованиям, предъявляемым к донорам (Мережко, 1984): они легко скрещиваются с улучшаемыми сортами и дают при этом высокофертильное потомство, достаточно универсальны и не имеют отрицательных признаков, генетически сцепленных с устойчивостью к вредителю. Во многих случаях потомство BC1 может быть более приемлемым по агрономическим признакам, чем BC2.

Таким образом, в зависимости от особенностей культуры значение того или иного способа расширения разнообразия по генам устойчивости может быть разным. Так, генофонд мягкой и твердой пшеницы беден устойчивыми к тлям формами, однако лишь образцы культивируемых видов сорго характеризуются высокой устойчивостью к обыкновенной злаковой тле. В случае исчерпания генофонда основное значение приобретают мутантные формы, созданные с помощью традиционных и биотехнологических методов. Наши эксперименты показали, что соматическая изменчивость может быть использована для расширения генетического разнообразия пшеницы и ячменя по устойчивости к обыкновенной злаковой тле (Radchenko, Tyryshkin, 2004).

Срок «полезной жизни» гена устойчивости в случае его широкого использования в селекции не превышает 10 лет. Ячменная (русская пшеничная) тля – ключевой вредитель зерновых колосовых культур в США. В 1994 г. были выпущены в производство сорта пшеницы с геном устойчивости *Dn4*, а уже в 2003 г. в штате Колорадо на посевах сорта Prairie Red, защищенного этим геном, наблюдали вспышку размножения фитофага. Новая внутривидовая форма (биотип 2, позднее обозначенный как RWA2) за короткое время стала доминировать (73–95%) на посевах пшеницы и ячменя, по крайней мере, в четырех штатах (Puterka et al., 2007). Еще один пример – возделывание устойчивых к биотипу E *S. graminum* гибридов сорго в США. Семена этих гибридов начали продавать с 1982 г., к 1986 г. объем продаж в штате Оклахома составил 38% от общего количества (Kerns et al., 1987); в штате Канзас в 1989 г. примерно половина площадей сорго была занята устойчивыми гибридами, в Техасе – 90% (Reese et al., 1990). Распространение «соргового» биотипа I отмечено в 1990 г., при этом все найденные ранее источники устойчивости оказались неэффективны (Harvey et al., 1991). В России сорго – менее распространенная культура, поэтому преобладание вирулентных к сорту Сарваши клонов в краснодарской популяции тли отмечено нами примерно через 20 лет после выпуска в производство сортов и гибридов, имеющих в родословной этот донор устойчивости.

Результаты наших исследований показывают, что по характеру фенотипического проявления и наследования нельзя отличить потенциально преодолеваемую обыкновенной злаковой тлей устойчивость от непреодолеваемой (длительной). И большие, и малые гены устойчивости сорго к *S. graminum* дифференциально взаимодействуют с генотипами вредителя и, вопреки постулатам Ван дер Планка (Van der Plank, 1968), не могут быть основой длительно сохраняющейся устойчивости. Возможность быстрого преодоления малых генов устойчивости подтверждена наблюдениями за сезонной динамикой состава природной популяции насекомого на устойчивом сорте (Радченко и др., 2001). Очевидно, связи между фенотипическим проявлением, генетическим контролем и длительностью устойчивости не существует.

Мы предположили, что причину длительного сохранения устойчивости следует искать не в механизмах взаимодействия паразита и хозяина, а в негативных для фитофага последствиях соответствующей мутации вирулентности. В системе взаимодействия сорго – обыкновенная злаковая тля нами получены данные, подтверждающие гипотезу о связи редкой вирулентности фитофага с пониженной жизнеспособностью. Клоны из краснодарской популяции *S. graminum*, вирулентные к генам устойчивости *Sgr5* и *Sgr6*,

менее плодovиты по сравнению с авирулентными и вытесняются при репродукции модельных популяций на восприимчивой линии сорго (Радченко и др., 2007б).

В настоящее время известно несколько способов восстановления генетического разнообразия зерновых культур, обсуждаемых в отечественной и зарубежной научной печати: чередование во времени сортов с разными генами устойчивости; «мозаики» (возделывание одновременно большого числа сортов с разными генами устойчивости в ареале вредителя); селекция мультилинейных сортов (механических смесей фенотипически сходных линий, различающихся по генам устойчивости); пирамидирование (объединение в одном генотипе различных факторов устойчивости). Данные стратегии селекции не альтернативны и могут использоваться в любых комбинациях.

Мировой опыт и наши собственные исследования показывают, что замедление процесса адаптации вредителей к устойчивым сортам зависит от расширения запаса эффективных генов устойчивости, а также от знания механизмов эволюции совместимости вредителей с растениями-хозяевами. Необходимо длительное изучение изменчивости популяций тлей по признаку вирулентности к генам устойчивости растения-хозяина для того, чтобы предложить обоснованную схему размещения сортов с разными генами устойчивости. Тем не менее, создание «нерегулярной», т. е. ничем не регламентированной мозаики сортов в настоящее время вполне возможно. Предложенная стратегия селекции может реализовываться на практике уже сейчас – прежде всего, для регуляции численности обыкновенной злаковой тли на сорго.

Литература

- Вавилов Н. И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям. М.: Наука, 1986. 520 с.
- Дорофеев В. Ф., Филатенко А. А., Мигушова Э. Ф., Удачин Р. А., Якубцинер М. М. Пшеница. Культурная флора СССР. Л.: Колос, 1979. Т. 1. 348 с.
- Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. Л.: Колос, 1971. 751 с.
- Мережко А. Ф. Система генетического изучения исходного материала для селекции растений: Методические указания. Л.: ВИР, 1984. 70 с.
- Пайнтер Р. Устойчивость растений к насекомым. М.: Изд-во иностранной литературы, 1953. 442 с.
- Радченко Е. Е. Внутривидовая дифференциация большой злаковой тли в связи с селекцией на устойчивость к вредителю // Сб. науч. трудов по прикл. бот., ген. и сел. Л.: ВИР, 1987. Т. 110. С. 76–81.
- Радченко Е. Е. Внутривидовая изменчивость обыкновенной черемуховой тли // Сб. науч. трудов по прикл. бот., ген. и сел. СПб.: ВИР, 1993. Т. 147. С. 49–53.
- Радченко Е. Е. Новые гены устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле // Генетика. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 1995. Т. 31. № 5. С. 668–673.
- Радченко Е. Е. Идентификация генов устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле // Генетика. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2000. Т. 36. № 4. С. 510–519.
- Радченко Е. Е. Наследование устойчивости образцов зернового сорго и суданской травы к обыкновенной злаковой тле // Генетика. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2006. Т. 42. № 1. С. 65–70.
- Радченко Е. Е. Злаковые тли // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам: Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия, 2008. С. 214–257.
- Радченко Е. Е., Берим М. Н., Зубов А. А. Генетический контроль различных типов устойчивости зерновых культур к тлям (Homoptera, Aphididae) // Энтомологическое обозрение. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2007а. Т. 86. Вып. 2. С. 247–258.
- Радченко Е. Е., Зубов А. А., Берим М. Н. Влияние генов вирулентности, комплементарных эффективным генам устойчивости сорго, на жизнеспособность обыкновенной злаковой тли *Schizaphis graminum* Rondani (Homoptera, Aphididae) // Энтомологическое обозрение. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2007б. Т. 86. Вып. 4. С. 773–780.

- Радченко Е. Е., Одинцова И. Г., Власова Т. В. Наследование признака слабо выраженной устойчивости сорго к обыкновенной злаковой тле // Генетика. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. Т. 37. № 10. С. 1364–1370.
- Шапошников Г. Х. Эволюция тлей в связи со специализацией и сменой хозяев: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л.: ЗИН, 1967. 41 с.
- Andrews D. J., Bramel-Cox P. J., Wilde G. E. New sources of resistance to greenbug, biotype I, in sorghum // Crop Sci. 1993. V. 33. № 1. P. 198–199.
- Bowling R., Wilde G. Mechanisms of resistance in three sorghum cultivars resistant to greenbug (Homoptera: Aphididae) biotype I // J. Econ. Entomol. 1996. V. 89. № 2. P. 558–561.
- Dahms R. G. Comparative tolerance of small grains to greenbugs from Oklahoma and Mississippi // J. Econ. Entomol. 1948. V. 41. № 5. P. 825–826.
- Harvey T. L., Kofoid K. D., Martin T. J., Sloderbeck P. E. A new greenbug virulent to E-biotype resistant sorghum // Crop Sci. 1991. V. 31. № 6. P. 1689–1691.
- Kerns D. L., Peters D. C., Puterka G. J. Greenbug biotype and grain sorghum seed sale surveys in Oklahoma // Southwest. Entomol. 1987. V. 12. № 3. P. 237–243.
- Nkongolo K. K., Quick J. S., Meyer W. L., Pairs F. B. Russian wheat aphid resistance of wheat, rye, and triticale in greenhouse tests // Cereal Res. Commun. 1989. V. 17. № 3-4. P. 227–232.
- Puterka G. J., Burd J. D., Porter D., Shufron K., Baker C., Bowling B., Patrick C. Distribution and diversity of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) biotypes in North America // J. Econ. Entomol. 2007. V. 100. № 5. P. 1679–1684.
- Puterka G. J., Peters D. C. Genetics of greenbug (Homoptera: Aphididae) virulence to resistance in sorghum // J. Econ. Entomol. 1995. V. 88. № 2. P. 421–429.
- Radchenko E. E., Tyryshkin L. G. Components of the greenbug (*Schizaphis graminum* Rond.) resistance in wheat and barley somaclonal variants // Cereal Res. Commun. 2004. V. 32. № 2. P. 255–258.
- Reese J. C., Bramel-Cox P., Ma R., Dixon A. G. O., Mize T. W., Schmidt D. J. Greenbug and other pest resistance in sorghum // 44th Annual Corn and Sorghum Research Conference. 1990. 29 p.
- Van der Plank J. E. Disease resistance in plants. New York: Academic Press, 1968. 206 p.
- Wilde G., Feese H. A new corn leaf aphid biotype and its effect on some cereal and small grains // J. Econ. Entomol. 1973. V. 66. № 2. P. 570–571.

КЛОНОВАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ДИКИХ ВИДОВ И МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ, ИЗУЧЕННАЯ ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ И С ПОМОЩЬЮ ДНК-МАРКЕРОВ[†]

Е. В. Рогозина¹, Э. Е. Хавкин², Е. А. Соколова², М. А. Кузнецова³, Т. А. Гавриленко¹,
Л. А. Лиманцева⁴, В. А. Бирюкова⁵, Н. А. Чалая¹, Р. В. Джонс⁶, К. Л. Дил⁶

¹Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: rogozinaelena@gmail.com;

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии
Россельхозакадемии, Москва, Россия, e-mail: emil.khavkin@gmail.com;

³Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхозакадемии,
Москва, Россия, e-mail: kuznetsova@gmail.com;

⁴Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Россельхозакадемии,
Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lutik47@yandex.ru;

⁵Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А. Г. Лорха
Россельхозакадемии, Москва, Россия, e-mail: vika_biryukova@inbox.ru;

⁶Лаборатория генетического улучшения плодов и овощей Службы сельскохозяйственных
исследований Министерства сельского хозяйства США, Белтсвилл, США,
e-mail: richard.jones@ars.usda.gov

Резюме

Образцы из коллекции диких клубненосных видов рода *Solanum* L. и межвидовых гибридов оценены в полевых и лабораторных испытаниях по устойчивости к наиболее опасным патогенам картофеля: *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, Y-вирусу, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens. Впервые ДНК-маркеры генов устойчивости к фитофторозу (R1-1205, R3-1380, RB-629), вирусу Y (GP122/EcoRV-406, RYSC3-320), и золотистой картофельной нематоды патотипа Ro1 (TG 689, Gro1-4) использованы при изучении генетического разнообразия диких родичей и селекционного материала. Фенотипически и генотипически разнообразный материал сохраняется в клубневой репродукции и составляет клоновую коллекцию. Эта коллекция отражает спектр изменчивости диких клубненосных родичей и селекционных форм и является основой для дальнейших исследований в области сравнительной и функциональной геномики и интрогрессивной селекции.

Ключевые слова: *Solanum*, селекция картофеля, фитофтороз, Y-вирус, нематода патотипа Ro1, ДНК-маркеры, R-гены.

CLONE COLLECTION OF WILD SPECIES AND INTERSPECIFIC HYBRIDS OF POTATO STUDIED PHYTOPATHOLOGICALLY AND BY MEANS OF DNA MARKERS

E. V. Rogozina¹, E. E. Khavkin², E. A. Sokolova², M. A. Kuznetsova³, T. A. Gavrilenko¹,
L. A. Limantseva⁴, V. A. Biryukova⁵, N. A. Chalaja¹, R. W. Jones⁶, K. L. Deahl⁶

¹N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: rogozinaelena@gmail.com

²All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS,
Moscow, Russia, e-mail: emil.khavkin@gmail.com

³All-Russian Research Institute of Phytopathology RAAS,
Moscow, Russia, e-mail: kuznetsova@gmail.com

⁴All-Russian Research Institute of Plant Protection RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: lutik47@yandex.ru

⁵Lorkh All-Russian Research Institute for Potato Growing RAAS,
Moscow, Russia, e-mail: vika_biryukova@inbox.ru

⁶USDA-ARS Genetic Improvement of Fruits and Vegetables Laboratory, Beltsville, USA,
e-mail: richard.jones@ars.usda.gov

[†]Работа частично поддержана проектом МНТЦ 3714 р и контрактом Министерства образования и науки РФ № 16.М 04.12.0007.

Summary

Samples from the collection of wild tuber species *Solanum* and interspecific hybrids were evaluated in field and laboratory tests for resistance to most dangerous potato pathogens: *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, Y-virus, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens. For the first time DNA markers for the *R*-genes for resistance to late blight (R1-1205, R3-1380, RB-629), potato virus Y (GP122/EcoRV-406, RYSC3-320), and nematode pathotype Ro1 (TG 689, Gro1-4) have been used to evaluate genetic variation in wild potato relatives and breeding material. New knowledge has been gained on the diversity of gene pools of wild potato species. Phenotypically and genotypically diverse material is maintained as clonal reproductions of potato genotypes. This collection of potato clones exhibits the range of variation of wild potato relatives and cultivated potato. It becomes a basis for further research in comparative and functional genomics and potato introgression breeding.

Key words: *Solanum*, potato breeding, late blight, potato virus Y, nematode pathotype Ro1, DNA markers, *R*-genes.

Введение

Среди основных разделов селекции как научной дисциплины Н. И. Вавилов особо выделял учение об исходном материале. Новаторство Н. И. Вавилова заключалось в построении ботанико-географических основ селекции взамен ранее существовавшего фрагментарного использования видов, в разработке и применении дифференциального метода для исследования «видового и родового потенциала» растительных объектов (Вавилов, 1935).

«Революцию в селекции картофеля» произвели экспедиции ВИР в страны Центральной и Южной Америки и открытие центров генетического разнообразия этой культуры (Букасов, 1933). Изучение многообразия видов картофеля и их использование для целей селекции началось в ВИРе сразу после опубликования первых результатов этих экспедиций. Дикие клубненосные виды, непригодные для непосредственного хозяйственного использования, оказались перспективным генетическим материалом для улучшения существующих сортов картофеля, в первую очередь для селекции на устойчивость к патогенам и неблагоприятным факторам среды (Букасов, Камераз, 1972). Благодаря экспедиционным сборам и взаимному обмену с зарубежными странами на протяжении 20 века коллекция картофеля ВИР пополнялась новыми образцами диких и культурных форм *Solanum* (Горбатенко, Киру, 2007). Итоги многолетнего изучения этой коллекции свидетельствуют о комплексном подходе к объекту исследования, тщательном и всестороннем анализе различных аспектов биологии картофельного растения (Букасов, Камераз, 1972; Будин, 1986, 1997). Получено именно то «знание амплитуды морфологических, физиологических, количественных и качественных различий в пределах видов», о необходимости которого говорил Н. И. Вавилов (1935).

Достижения молекулярной биологии конца 20 – начала 21 веков способствовали переходу на новый уровень исследования – молекулярно-генетический анализ живых объектов, в том числе объектов сельскохозяйственного производства. Заметный прогресс достигнут в исследовании картофеля и поражающих его вредных организмов. Выполнено секвенирование геномов картофеля (Potato genome...), возбудителя фитофтороза – оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Haas et al., 2009), мозаичных вирусов X, S, M, Y, A (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse>). Клонированы гены, контролирующие взаимодействие диких видов картофеля с *P. infestans*: *R1* у *Solanum demissum* Lindl. (Ballvora et al., 2002), *RB* у *Solanum bulbocastanum* Dun. (Song et al., 2003). Картированы доминантные гены, контролирующие крайнюю устойчивость к Y-вирусу. Локусы генов *Ry_{and}* (вид *Solanum andigenum* Juz. et Buk.) и *Ry_{sto}* (вид *Solanum stoloniferum* Schlecht.) выявлены в одном и

том же регионе XI хромосомы (Hämäläinen J. et al., 1997; Brigneti et al., 1997, соответственно). Другой ген крайней устойчивости вида *S. stoloniferum* – *R_{Yf sto}* – локализован на XII хромосоме (Flis et al., 2005), ген *R_{ychc}* (вид *Solanum chacoense* Bitter) – на IX хромосоме (Hosaka et al., 2001). Локализован ген *H1* (вид *S. andigenum*), наиболее часто используемый в селекции на устойчивость к нематоде *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens. Его локус картирован на длинном плече V хромосомы (Bakker et al., 2004). Другой, контролирующей устойчивость к нематоде ген *Gro1-4* у вида *Solanum spegazzinii* Bitt. локализован на коротком плече VII хромосомы и идентифицирован как член большого семейства генов *Gro1*, кластер которых объединяет как функциональные, так и псевдогены (Paal et al., 2004). Реальное участие *R*-генов в защите картофеля от этих патогенов доказано различными методами молекулярной геномики (Bryan, Hein, 2008). Очевидно, что оцененное фитопатологическими методами разнообразие видов картофеля по устойчивости к вредным организмам в коллекции ВИР, теперь следует дополнить данными молекулярного анализа последовательностей *R*-генов.

Способность культурного и дикого картофеля к вегетативному размножению позволяет сохранять отдельные генотипы в виде клонов на протяжении ряда лет, проводить с ними полевые и лабораторные опыты в разных условиях и разнообразными методами, а затем сопоставлять полученные данные. Нами сформирована и синхронно изучена фитопатологическим методом и с помощью ДНК-маркеров клоновая коллекция диких видов и гибридов диких видов с культурным картофелем. В статье представлены результаты оценки образцов клоновой коллекции по устойчивости к фитофторозу, Y-вирусу картофеля, золотистой картофельной нематоде *G. rostochiensis* патотип Ro1 и наличию ДНК-маркеров *R*-генов устойчивости.

Материалы и методы

Материал исследования – растения диких видов и межвидовых гибридов картофеля. Изучены растения 20 диких видов – представителей 10 серий в составе секции *Petota* рода *Solanum*. В том числе североамериканские виды серий: *Verrucosa* Buk. (*Solanum verrucosum* Schlecht.), *Demissa* Buk. (*Solanum brachycarpum* Corr., *S. demissum*, *Solanum hougassii* Corr.), *Longipedicellata* Buk. (*Solanum fendleri* A. Gray, *Solanum hjertingii* Hawk., *Solanum papita* Rydb., *Solanum polytrichon* Rydb., *S. stoloniferum*), *Polyadenia* Buk. (*Solanum polyadenium* Greenm.), *Pinnatisecta* Rydb. (*Solanum brachistotrichum* (Bitt.) Rydb., *Solanum jamesii* Torr., *Solanum pinnatisectum* Dun., *Solanum stenophyllidium* Bitt., *Solanum tarnii* Hawkes et Hjerting), *Cardiophylla* Buk. (*Solanum cardiophyllum* Lindl., *Solanum ehrenbergii* (Bitt.) Rydb., *Bulbocastana* Rydb. (*S. bulbocastanum*) и два южноамериканских вида серий: *Bukasoviana* Gorb. (*Solanum avilesii* Hawkes et Hjerting) и *Simpliciora* (Buk.) Gorb. (*Solanum microdontum* Bitt.). Виды представлены разным числом коллекционных образцов и отдельных генотипов, которые были отобраны среди семян и в дальнейшем сохранялись в виде клонов (таблица 1). Основным критерием при отборе клоновых растений дикого картофеля для исследования являлось хорошее клубнеобразование и отсутствие симптомов поражения вирусами.

Изучены 35 генотипов межвидовых гибридов картофеля, отобранных в потомствах первого скрещивания, беккрасса или сложных конвергентных скрещиваний разных комбинаций. Гибриды созданы на основе диких видов картофеля из североамериканского (*S. stoloniferum*, *S. bulbocastanum*, *S. polytrichon*, *S. pinnatisectum*, *S. verrucosum*) и южноамериканского (*Solanum berthaultii* Hawkes, *S. microdontum*, *Solanum simplicifolium*, *Solanum acaule* Bitt., *Solanum vernei* Bitt. et Wittm. ex Engl., *S. spegazzinii*, *Solanum alandiae* Card., *S. avilesii*) генцентров, а также культурных видов (*S. andigenum*, *Solanum phureja* Juz. et Buk., *Solanum rybinii* Juz. et Buk.). В качестве

партнеров при гибридизации использовали сорта картофеля, дигамплоиды сортов, либо селекционные формы. Клоны межвидовых гибридов отобраны по комплексу хозяйственно-ценных признаков: продуктивности, правильной формы клубней, устойчивости к патогенам (фитофторе, Y-вирусу, возбудителю рака картофеля, нематоде патотипа Ro1).

Таблица 1. Дикие виды картофеля, исследованные фитопатологическим методом и с помощью ДНК-маркеров

Серия	Вид	Число образцов	Число генотипов
<i>Verrucosa</i>	<i>S. verrucosum</i>	9	12
<i>Demissa</i>	<i>S. brachycarpum</i>	4	4
	<i>S. demissum</i>	23	26
	<i>S. hougasii</i>	3	4
<i>Longipedicellata</i>	<i>S. fendleri</i>	3	3
	<i>S. hjertingii</i>	5	5
	<i>S. papita</i>	2	2
	<i>S. polytrichon</i>	9	9
	<i>S. stoloniferum</i>	27 + 5*	33 + 19*
<i>Polyadenia</i>	<i>S. polyadenium</i>	7	7
<i>Pinnatisecta</i>	<i>S. brachistotrichum</i>	2	2
	<i>S. jamesii</i>	10	12
	<i>S. pinnatisectum</i>	7 + 4*	10 + 48*
	<i>S. stenophyllidium</i>	2	3
	<i>S. tarnii</i>	3	3
<i>Cardiophylla</i>	<i>S. cardiophyllum</i>	6	6
	<i>S. ehrenbergii</i>	13	16
<i>Bulbocastana</i>	<i>S. bulbocastanum</i>	19	26
<i>Bukasoviana</i>	<i>S. avilesii</i>	2	2
<i>Simpliciora</i>	<i>S. microdontum</i>	4	4

* Для видов *S. stoloniferum*, *S. pinnatisectum* показано отдельно число образцов и генотипов, изученных по устойчивости к фитофторозу и Y- вирусу, а также наличие ДНК-маркеров соответствующих R-генов.

Устойчивость к фитофторозу изучена в полевых и лабораторных опытах. В условиях естественного развития инфекции поражение фитофторозом оценено по шкале 1–9, где 9 – отсутствие поражения. Контроль – восприимчивый сорт Bintje, устойчивый сорт Наяда. При искусственном заражении отдельных листьев оценена устойчивость к двум изолятам патогена *P. infestans* из популяций, отобранных в Тульской и Ленинградской областях. Оба изолята имели все известные гены вирулентности (*v1–11*); концентрация инокулята – 10–20 тыс. конидий/мл. Контроль – листья сортов Sante (ВНИИФ), Елизавета и Latona (ВИЗР). Оценивали площадь поражения листа и интенсивность спороношения (Федотова, Патрикеева, 1977; Colon et al., 2004).

Устойчивость к Y-вирусу оценена при двукратной механической инокуляции и последующем испытании непораженных растений методом прививки. Использованы изоляты обычного штамма Y^o (сорт Детскосельский) и некротического штамма Y^N (сорт Wilga, Польша). Инфекционность изолятов подтверждена реакцией тест-растений – *Nicotiana tabacum* L. (сорт Самсун). Результаты заражения оценены по наличию видимых симптомов вирусной инфекции и методом ИФА в модификации «двойной

сэндвич» (Clark, Adams, 1977). Использованы диагностические наборы производства Agdia, Bioreba, НПО «Биотехнология» при ВНИИКС им. А. Г. Лорха.

Устойчивость к золотистой нематоды патотипа Ro1 (карантинный объект) оценена в лабораторном опыте ВИЗР (Положение об испытании..., 1993). Клубни (для оценки клонов в трехкратной повторности) высаживали по одному в полиэтиленовые сосуды объемом 500 см³. Инвазионная нагрузка почвы – около 3,5 тыс. личинок/100см³. Поражаемый контроль – сорт Невский, устойчивый – сорт Latona. Учет цист проводили на коме почвы и корнях растений. К категории «устойчивый» относили образцы, не имеющие цист, «слабоустойчивый» образец имеет не более пяти пустых цист и «поражаемый» образец – большее число цист на корнях растений.

Молекулярно-генетический анализ выполнен на препаратах тотальной ДНК, которую выделяли из листьев молодых растений (маркерный анализ генов устойчивости к фитофторозу и золотистой нематоды) или клубней (маркерный анализ генов устойчивости к вирусу Y). Использованы SCAR-маркеры генов устойчивости к фитофторозу: R1-1205 гена *R1*, R3-1380 гена *R3a*, RB-629 гена *RB* (Khavkin et al., 2010; Pankin et al., 2010); маркеры, разработанные для выявления сортов и селекционных форм картофеля, устойчивых к Y-вирусу: CAPS маркер GP122/EcoRV-406 гена *Ry_{sto}* (Valkonen et al., 2008), SCAR-маркер RYSC3-320 гена *Ry_{adg}* (Kasai et al., 2000); пары праймеров TG 689 (de Jong, не опубликовано) и Gro1 (Paal et al., 2004), разработанные для определения сортов и клонов, устойчивых к золотистой нематоды, имеющих соответственно гены *H1*, *Gro1-4*.

Экспериментальные данные обработаны с использованием программ Microsoft Office Excel 2003 и Statistics 6.1 Stat Soft Russia.

Результаты

В состав клоновой коллекции входят растения 20 диких видов картофеля и клоны межвидовых гибридов, выделенные в потомстве от скрещивания культурных и диких форм картофеля. В коллекции представлено межвидовое и внутривидовое разнообразие секции *Petota* по уровню пloidности (2х, 4х, 6х) и типу генома (А и В-тип).

По устойчивости к фитофторозу и наличию ДНК маркеров генов *R1*, *R3a*, *RB* охарактеризовано 190 генотипов 169 образцов 20 диких видов и 35 гибридных генотипов картофеля (табл. 2).

В полевых испытаниях в условиях высокого естественного инфекционного фона (Патрикеева и др., 2010) наблюдали вариативность признака фитофтороустойчивости у растений исследуемой выборки диких видов. Генотипы дикого картофеля дифференцированы на три группы в соответствии с размером поражения листовой поверхности фитофторозом (см. табл. 2). Двухфакторный дисперсионный анализ данных двухлетнего полевого изучения показывает, что оба фактора – генотип дикого картофеля и год испытаний – значимо и независимо друг от друга влияли на результирующий признак (Rogozina et al., 2010).

При искусственном заражении отделенных листьев растений дикого картофеля изолятами сложной расы патогена *P. infestans* отмечено разнообразие ответных реакций тестируемых генотипов. Все исследованные нами растения видов *S. hoggasii*, *S. polyadenium*, *S. pinnatisectum*, *S. microdontum* и большинство генотипов видов *S. demissum* и *S. bulbocastanum* устойчивы или среднеустойчивы к фитофторозу (см. табл. 2). Восприимчивы к фитофторозу растения видов *S. fendlerii*, *S. brachistotrichum*, *S. stenophyllidium*. Данные полевого и лабораторного испытаний растений диких видов по устойчивости к фитофторозу имеют разную степень взаимосвязи. Тесная корреляция установлена для результатов лабораторных испытаний при оценке устойчивости растений диких видов картофеля к двум изолятам патогена

P. infestans (коэф. Спирмена $r = 0,78$). Совпадение оценок двухлетнего полевого испытания, также как совпадение результатов полевого и лабораторного испытаний имеют среднюю степень связи (соответственно, $r = 0,50$ и $r = 0,39-0,53$), что указывает на значительное влияние неконтролируемых факторов.

Клоны межвидовых гибридов характеризуются высокой, средней или слабой устойчивостью к заболеванию (см. табл. 2). Из 35 гибридных клонов, оцененных в многолетних полевых испытаниях, в том числе при эпифитотийном развитии фитофтороза (2008–2009 гг.), на листьях 15 клонов признаки поражения отсутствовали или отмечены лишь единичные инфекционные пятна (устойчивость 8–9 баллов). У 15 гибридных клонов, а также районированного сорта Наяда отмечено замедленное развитие фитофтороза и поражение не более половины листовой поверхности. На листьях восприимчивого контроля – сорта Bintje болезнь развивалась стремительно и в короткий период полностью поражала растения. В течение трех лет испытаний сохранялся ранговый порядок большинства испытуемых гибридных клонов и сортов. Дисперсионный анализ указывает на достоверность различий испытуемых клонов и сортов по величине площади поражения листовой поверхности фитофторозом ($F_{\text{ф}} = 7,67 > F_{05} = 1,80$ $p < 0,0001$) и не выявил существенных различий между группами «год испытания», что подтверждает стабильность фенотипических реакций исследованного материала на инфекцию *P. infestans* в полевых условиях.

При искусственном заражении отделенных листьев растений межвидовых гибридов выявлены устойчивые к высоковирулентным изолятам патогена *P. infestans* клоны 97-162-5, 159-1, 90-7-7, 1-09, 13-09, 27-09. Результаты лабораторного испытания подтвердили высокую устойчивость этих клонов к фитофторозу, отмеченную в полевых условиях.

Маркеры генов *R1*, *R3a*, *RB* встречаются с разной частотой у растений дикого картофеля. Маркер R-1205 в исследованной выборке детектирован наименее часто, выявлен кроме растений вида *S. demissum* у видов *S. brachycarpum*, *S. hougasii* (серия *Demissa*), у единичных генотипов видов *S. polytrichon*, *S. stoloniferum* (серия *Longipedicellata*) и у одного растения южноамериканского вида *S. microdontum* (табл. 2). Маркер R3-1380 встречается более часто, чем маркер R1-1205, у генотипов не только видов *S. demissum*, *S. hougasii*, *S. polytrichon*, *S. stoloniferum*, но и *S. cardiophyllum*, *S. ehrenbergii*, серии *Cardiophylla*; вида *S. bulbocastanum* одноименной серии, также обнаружен у растения вида *S. microdontum*. Наиболее распространенным является маркер RB-629, который обнаружен у растений всех исследованных видов, кроме *S. brachycarpum*, *S. tarnii*, *S. avilesii* (см. табл. 2).

Среди растений исследуемой выборки обнаружены генотипы, несущие по два маркера R-генов устойчивости. Оба маркера R1-1205 и R3-1380 обнаружены у растения к-15174 вида *S. demissum*. Сочетание маркеров R1-1205 + RB-629 найдено у пяти генотипов – образцов кк-24890, 21371 вида *S. demissum*, кк-24973, 24976, 24977 вида *S. stoloniferum*. Сочетание R3-1380 + RB 629 найдено у 14 генотипов – образцов к-8818 вида *S. hougasii*, к-24463 вида *S. polytrichon*, кк-18925, 23652, 24981, 20106 вида *S. stoloniferum*, кк-21301, 24572 вида *S. ehrenbergii*, кк-24856, 24857, 24858, 24861 вида *S. bulbocastanum*. Среди исследованных растений дикого картофеля сочетание трех маркеров обнаружено только один раз – у образца к-12658 южноамериканского вида *S. microdontum*.

При ДНК-анализе гибридных клонов SCAR маркеры генов *R1*, *R3a*, *RB* встречаются с большей частотой, нежели у растений диких видов картофеля (см. табл. 2). Сочетание маркеров R1-1205 + R3-1380 или R1-1205 + RB-629 найдено у двух генотипов, сочетание R3-1380 + RB-629 – у пяти генотипов. У клонов 40-2000 и 27-09 обнаружены все три маркера.

Таблица 2. Устойчивость к патогенам и результаты маркерного анализа диких видов и межвидовых гибридов картофеля

Фитофтороз						
Вид (изучено генотипов)	Распределение генотипов на группы устойчивости, балл			Частота ДНК-маркеров		
	8–9	5–7	2–4	R1-1205	R3-1380	RB -629
<i>S. verrucosum</i> (12)	1	4	7	0	0	0 (6)*
<i>S. brachycarpum</i> (4)	0	4	0	0,75	0	0
<i>S. demissum</i> (26)	13	10	3	0,50 (24)	0,16 (25)	0,28 (14)
<i>S. hougasii</i> (4)	1	3	0	0,66 (3)	0,33 (3)	0,50
<i>S. fendleri</i> (3)	0	0	3	0	0	1,00
<i>S. hjertingii</i> (5)	0	2	3	0	0	0,80
<i>S. papita</i> (2)	0	2	0	0	0	0,50
<i>S. polytrichon</i> (9)	1	3	5	0,11	0,11	0,50 (2)
<i>S. stoloniferum</i> (33)	10	5	18	0,15	0,24	0,87 (23)
<i>S. polyadenium</i> (7)	6	1	0	0	0	0,33 (6)
<i>S. brachistotrichum</i> (2)	0	0	2	0	0	1,00
<i>S. jamesii</i> (12)	2	7	3	0	0	0,43 (7)
<i>S. pinnatisectum</i> (10)	6	4	0	0 (9)	0 (9)	0,50 (8)
<i>S. stenophyllidium</i> (3)	0	0	3	0	0	0,66
<i>S. tarnii</i> (3)	0	2	1	0	0	0 (1)
<i>S. cardiophyllum</i> (6)	1	3	2	0	0,33	0,25 (4)
<i>S. ehrenbergii</i> (16)	4	2	10	0	0,19	0,27 (15)
<i>S. bulbocastanum</i> (26)	19	3	4	0	0,19	0,65 (17)
<i>S. avilesii</i> (2)	1	0	1	0	0	н. д.
<i>S. microdontum</i> (4)	3	1	0	0,25	0,25	0,33 (3)
Происхождение гибрида (изучено клонов)						
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. demissum</i> , культурные виды (6)	1	4	1	0,33	0,5	0,33
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. demissum</i> , культурные и дикие южноамериканские виды (8)	2	4	2	0,25	0	0,25
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. demissum</i> , культурные и дикие североамериканские виды (9)	5	3	1	0,66	0,22	0,22
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. demissum</i> , северо- и южноамериканские виды (12)	7	4	1	0,33	0,66	0,42
Y-вирус						
Вид (изучено генотипов)	Распределение генотипов на группы:		Частота ДНК-маркеров			
	устойчив	восприим- чив	RYSC3- 320	GP122-EcoRV-406		
<i>S. stoloniferum</i> (19)	19	0	0,95	0,47		
<i>S. pinnatisectum</i> (48)	34	14	0,90	0		
Нематода патотипа Ro 1						
Происхождение гибрида (число клонов)	Распределение генотипов на группы:		Частота ДНК-маркеров			
	устойчив	восприим- чив	TG 689	Gro1-4		
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. andigenum</i> , <i>S. stoloniferum</i> (6)	6	0	0,83	0		
<i>S. tuberosum</i> , <i>S. andigenum</i> , <i>S. alandiae</i> (8)	6	2	0,50	0		

* В скобках число оцененных генотипов; н. д. – нет данных.

Сопоставление результатов фитопатологического и маркерного анализа растений диких видов картофеля выявило наличие достоверной, но слабой связи между устойчивостью к фитофторозу и наличием маркера гена *R1* ($r = 0,16$, $p < 0,05$). Связи между устойчивостью к заболеванию и наличием двух других использованных ДНК-маркеров у исследованной нами выборки генотипов дикого картофеля не обнаружено. Сопоставление результатов фитопатологического и маркерного анализа гибридных клонов выявило тесную связь между числом обнаруженных ДНК-маркеров и устойчивостью гибридных генотипов к фитофторозу ($r = 0,95$, $p < 0,05$). Устойчивость к фитофторозу гибридов, имеющих по два или три маркера *R*-генов, была выше, чем у генотипов, лишенных этих маркеров или несущих по одному из трех маркеров *R*-генов.

По устойчивости к *Y*-вирусу картофеля и наличию ДНК-маркеров генов *Ry-f_{sto}* *Ry-adg* охарактеризованы 19 генотипов вида *S. stoloniferum* и 48 генотипов вида *S. pinnatisectum*. В коллекции в виде клоновых растений сохранены иммунные генотипы вида *S. stoloniferum*, иммунные и восприимчивые генотипы вида *S. pinnatisectum* (см. табл. 2). Обнаружена высокая частота маркера *RYSC3-320*, который детектирован кроме одного у всех иммунных растений вида *S. stoloniferum*, а также у большинства как иммунных, так и поражаемых *Y*-вирусом растений *S. pinnatisectum*. Маркер *GP122/EcoRV-406* не выявлен у растений *S. pinnatisectum*, детектирован лишь у половины (9 из 19) иммунных к вирусу *Y* генотипов *S. stoloniferum*.

По устойчивости к нематоды патотипа *Ro1* и наличию ДНК-маркеров генов *H1*, *Gro 1-4* охарактеризованы 14 клонов межвидовых гибридов картофеля. Гибридные клоны созданы в результате работы по предбридингу – получению исходного материала, устойчивого к нематоды. С этой целью в скрещивания привлекали источники признака устойчивости к нематоды: селекционный материал, выведенный с участием вида *S. andigenum*, и образец ранее не использованного в селекции южноамериканского вида *S. alandiae*. ДНК-маркер *TG 689* выявлен с высокой частотой в генотипах нематодоустойчивых межвидовых гибридов разного происхождения, маркер *Gro1-4* не обнаружен (см. табл. 2).

Обсуждение и выводы

ДНК-фрагменты, охарактеризованные как маркеры генов устойчивости видов *S. demissum*, *S. bulbocastanum* к фитофторозу и вида *S. andigenum* к *Y*-вирусу, обнаружены у диких клубненосных родичей *Solanum*, далеко отстоящих в систематическом отношении и ранее не исследованных молекулярными методами (Sokolova et al., 2011; Рогозина и др., 2012). При сопоставлении данных фитопатологического и маркерного анализа становится ясным, что обнаруженные ДНК последовательности не всегда связаны с функциональной активностью соответствующих генов устойчивости. Структурные гомологи *R*-генов, найденные нами у широкого круга диких родичей, подтверждают отмеченное Н. И. Вавиловым «сходство в генотипической структуре», характерное для видов в пределах одного и того же рода или близких родов (Вавилов, 1935). ДНК-фрагменты, ассоциированные с генами диких видов, обнаружены нами также у гибридов диких видов с культурным картофелем. Стоит отметить, что ген *RB* идентифицирован у диплоидного североамериканского вида *S. bulbocastanum*, филогенетически удаленного от тетраплоидного культурного картофеля *S. tuberosum* и большинства диких родичей. Вид *S. bulbocastanum* имеет В-тип генома, в отличие от А-типа генома у используемых в селекции южноамериканских видов картофеля; не скрещивается с культурным картофелем и большинством диких видов. Тем не менее, ДНК-последовательности,

сходные с локусом гена *RB*, обнаружены у гибридных клонов, которые по своим хозяйственным качествам соответствуют требованиям, предъявляемым к сорту.

Нами также обнаружено сходство ДНК-фрагментов, ассоциированных с устойчивостью к Y-вирусу культивируемого в Южной Америке тетраплоидного вида *S. andigenum*, и ДНК-фрагментов дикого картофеля из Северной Америки: тетраплоидного вида *S. stoloniferum* и диплоидного *S. pinnatisectum*. Полученные результаты расширяют наши знания о генофондах диких видов и культурного картофеля.

Клоновая коллекция генотипов диких видов и культурных форм картофеля является основой для дальнейших исследований в области сравнительной и функциональной геномики и интрогрессивной селекции. Сравнительное изучение отдельных генотипов картофеля, имеющих тождественное происхождение и отличающихся по ДНК-маркерам генов устойчивости, позволит уточнить молекулярно-генетические особенности видов и селекционных форм картофеля, сопряженные с действием механизмов их защиты от фитопатогенов. В клоновой коллекции существует ряд таких форм, например гибридные клоны 24-1, 24-2, 117-2 и 39-1-2005, отобранные в комбинации F1 (*Atzimba* × *S. alandiae* к-21240), устойчивые к фитофторозу и нематоде патотипа Ro1, но различающиеся по наличию маркеров R-1205, RB 629, TG 689. Образцы клоновой коллекции могут быть использованы для усовершенствования существующих и/или разработки системы новых ДНК-маркеров, пригодных для идентификации селекционно-ценных генотипов.

Заключение

С помощью методов молекулярно-генетического анализа продолжено исследование видового потенциала и генетических взаимоотношений в пределах группы клубнеобразующих видов рода *Solanum*. Разработанная Н. И. Вавиловым методология учения об исходном материале составляет основу современной предселекции картофеля на устойчивость к вредным организмам.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ВНИИР, ВНИИСБ, ВНИИФ: канд. биол. наук О. Ю. Антоновой, канд. биол. наук М. П. Бекетовой, канд. биол. наук П. Е. Дробязиной, А. Р. Исламшиной, канд. биол. наук А. А. Панкину, канд. биол. наук А. Н. Рогожину, Т. И. Сметаниной, О. Ю. Шувалову за помощь в проведении исследований.

Литература

- Будин К. З. Генетические основы создания доноров картофеля. СПб., 1997. 40 с.
Будин К. З. Генетические основы селекции картофеля. Л., 1986. 192 с.
Букасов С. М. Революция в селекции картофеля. Л., 1933. 42 с.
Букасов С. М., Камераз А. Я. Селекция и семеноводство картофеля. Л., 1972. 360 с.
Вавилов Н. И. Селекция как наука // Теоретические основы селекции растений. М.-Л., 1935. С. 1–14.
Горбатенко Л. Е., Киру С. Д. История интродукции картофеля в Россию // Труды по прикл. бот., ген. и сел.: [К 80-летию мировой коллекции картофеля ВИР]. СПб.: ВИР, 2007. Т. 163. С. 22.
Патрикеева М. В., Веденяпина Е. Г., Воробьев Н. И. Изменения в популяции *Phytophthora infestans* в Ленинградской области за последние 10 лет // Технологии создания и использования сортов и гибридов картофеля с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам в защите растений. СПб., 2010. С. 106–116.
Положение о порядке испытания картофеля на устойчивость к возбудителю рака картофеля (патотип I) и золотистой картофельной цистообразующей нематоде (патотип Ro1). М., 1993. С. 6.

- Рогозина Е.В., Шувалов О.Ю. и др. Межвидовое и внутривидовое разнообразие картофеля по устойчивости к Y-вирусу // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 5. С. 64–69.
- Симаков Е. А, Склярова Н. П. и др. Методические указания по технологии селекционного процесса картофеля. М., 2006. 72 с.
- Федотова Т. И., Патрикеева М. В. Фитопатологические работы при селекции картофеля на устойчивость к фитофторе : Методические указания. Л., 1977. 50 с.
- Bakker E., Achenbach U. et al. A high-resolution map of the *H1* locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. P 146–152.
- Ballvora A., Ercolano M.R. et al. The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes// Plant J. 2002. V. 30. P. 361–371.
- Brigneti G., Garcia-Mas J. et al. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene *Ry_{sto}* in potato //Theor. Appl. Gen. 1997. V. 94. P. 198–203.
- Bryan G., Hein I. Genomic Resources and Tools for Gene Function Analysis in Potato //International Journal of Plant Genomics. V. 2008. P. 1–9. doi:10.1155/2008/216513.
- Clark M., Adams A. Characteristics of the microplate methods of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // J. Gen. Virol. 1977. V. 34. P. 475–483.
- Colon L., Bent J. Nielsen et al. Eucablight protocol – Detached leaf test for foliage blight resistance.[Электронный ресурс] 2004. URL: http://www.euroblight.net/Lib/EuroBlight/Protocol/DetachedLeaf_V12.pdf. (Дата обращения: 01.04.2013.)
- Flis B., Hennig J. et al. The *Ry-sto* gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistance to Potato virus Y maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP 122₇₁₈ in PVY resistant potato cultivates // Mol. Breed. 2005.V. 15. P. 95–101.
- Haas B., Kamoun S. et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* // Nature. 2009. V. 461. P. 393–398.
- Hämäläinen J., Watanabe K. et al. Mapping and marker-assisted selection for a gene forextreme resistance to potato virus Y// Theor. Appl. Gen. 1997. V. 94. P. 192–197.
- Hosaka K., Hosaka Y. Detection of a simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus Y in a tetraploid potato // American Journal of Potato Research. 2001. V. 78. 191–196.
- Kasai K., Morikawa Y. et al. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry* adg based on a common feature of plant disease resistance genes // Genome. 2000. V.43. P. 1–8.
- Khavkin E., Sokolova E. et al. Potato resistance to late blight as related to the *R1* and *R3* genes introgressed from *Solanum demissum*// PPO-Special Report. 2010. V. 14. P. 231–238.
- Paal J., Henselewski H. et al. Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach // Plant J. 2004. V. 38. P. 285–297.
- Pankin A., Sokolova E. et al. Allele mining in the gene pool of wild *Solanum* species for homologues of late blight resistance gene *RB/Rpi-blb1*// Plant Genet. Res. 2011. V. 9. P. 305–308.
- Potato Genome Sequencing Consortium et al. // Nature. 2011. V. 475. P. 189–195.
- Rogozina E., Kuznetsova M. et al. Late blight-resistant tuber-bearing *Solanum* species in field and laboratory trials. PPO-Special Report. 2010. V. 14. P. 239–246.
- Sokolova E., Pankin A. et al. SCAR markers of the *R*-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars// Plant Genet. Res. 2011. V. 9. P. 309–312.
- Song J., Bradeen J. et al. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight// PNAS. 2003. V.100. № 16. P. 9128–9133.
- Valkonen J., Wiegmann K. et al. Evidence for utility of the same PCR-based markers for selection of extreme resistance to Potato virus Y controlled by *Ry sto* of *Solanum stoloniferum* derived from different sources// Ann. Appl. Biol. 2008. V. 152. P. 121–130.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ РАСТЕНИЙ В ЭПОХУ ИНТЕГРАЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

УДК 575.1:633.854.78

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА[‡]

И. Н. Анисимова¹, В. А. Гаврилова¹, Н. В. Алпатьева¹, И. А. Малков¹,
А. Г. Пинаев², В. Т. Рожкова^{1*}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: irina_anisimova@inbox.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: a_pinaev@yahoo.com

Резюме

С использованием SCAR-маркера HRG02, сцепленного с ядерным геном *Rf1*, а также STS-маркера митохондриального гена *orfH522*, ассоциированного с PET1-типом цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), структурировано генетическое разнообразие 132 линий генетической коллекции подсолнечника по компонентам генетической системы ЦМС-Rf. Установлено, что большинство автофертильных линий имеют стерильную цитоплазму и, следовательно, могут рассматриваться как надежные источники гена восстановления фертильности для селекции родительских форм гибридов на основе ЦМС PET1. С целью разработки функционального маркера гена *Rf1* изучен полиморфизм фрагмента экспрессируемой последовательности (EST QHL12D20), гомологичной гену восстановления фертильности пыльцы *Petunia* × *hybrida*. Показано, что фрагмент содержит 3 PPR-мотива, характерных для генов *Rf* растений, и включает интрон длиной около 630 пн. При обработке амплифицированного фрагмента QHL12D20 рестриктазой HaeIII выявлен полиморфизм спектров рестрикции, обусловленный заменой единичного нуклеотида в локализованном в интроне сайте узнавания ферментом. Линии ЦМС и закрепители стерильности (генотип *rf1rf1*) характеризовались вариантом QHL12D20_2, тогда как вариант QHL12D20_1 выявлен у большинства восстановителей фертильности, несущих доминантный аллель в локусе *Rf1*.

Ключевые слова: подсолнечник, линии, ЦМС, восстановление фертильности пыльцы, гены, EST, полиморфизм.

MOLECULAR MARKING OF SUNFLOWER POLLEN FERTILITY RESTORATION GENES

I. N. Anisimova¹, V. A. Gavrilova¹, N. V. Alpatieva¹, I. A. Malkov¹,
A. G. Pinaev², V. T. Rozhkova¹

¹ N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: irina_anisimova@inbox.ru

²All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, e-mail: a_pinaev@yahoo.com

Summary

The genetic diversity of 132 sunflower inbred lines from the genetic collection was structured by components of the CMS-Rf genetic system using the SCAR-marker HRG02 linked with the nuclear gene *Rf1* and the STS-marker *orfH522* associated with CMS PET1. The majority of autofertile lines was shown to possess sterile cytoplasm and therefore can be used as reliable sources of the fertility

[‡]Работа поддержана РФФИ (проект № 12-04-00329) и Министерством образования и науки (государственный контракт № 16.552.11.7085).

restorer gene for breeding on the basis of CMS PET1. With the purpose of developing a functional marker of the *Rf1* gene polymorphism of the expressed sequence (EST QHL12D20) homologous to the restoration of pollen fertility gene of *Petunia × hybrida* was studied. The fragment contains 3 PPR-motives characteristic for plant *Rf* genes and includes intron of approximately 630 bp length. When the amplified fragment QHL12D20 was treated with the restrictase *HaeIII*, polymorphism of restriction patterns conditioned by single nucleotide substitution in the enzyme recognition site within the intron was revealed. Both CMS and maintainer lines (genotype *rf1rf1*) were characterized by the QHL12D20_2 variant whereas the QHL12D20_1 variant was found in the majority of restorer lines carrying dominant allele in the *Rf1* locus.

Key words: sunflower, lines, CMS, restoration of fertility, genes, EST, polymorphism.

Введение

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) – наследуемый по материнской линии признак неспособности растения продуцировать функциональную пыльцу – была открыта у кукурузы американским генетиком

(Roades, 1931) и сотрудником отдела генетики ВИР Михаилом Ивановичем Хаджиновым независимо друг от друга и практически одновременно. Поскольку фенотип ЦМС передается исключительно по материнской линии, этот феномен послужил идеальной моделью для изучения материнского наследования у растений. К настоящему времени явление ЦМС описано более чем у 200 видов высших растений (Иванов, Дымшиц, 2007). ЦМС открыла широкие возможности для практического использования гетерозиса в растениеводстве. Она исключает необходимость кастрации цветков материнских стерильных линий, обеспечивая возможность их контролируемого опыления пыльцой отцовских форм и получения гибридных семян. ЦМС используется в семеноводстве гибридов кукурузы, риса, хлопчатника, подсолнечника, рапса, овощных культур. Признак ЦМС наследуется по материнской линии и часто ассоциируется с нетипичными открытыми рамками считывания (ORF), обнаруженными в митохондриальных геномах. В большинстве случаев факторами, индуцирующими мужскую стерильность, являются химерные гены, возникающие в результате перестроек последовательностей митохондриальной ДНК. Эти гены включают копии либо части генов «домашнего хозяйства» митохондрий и (или) новые неидентифицированные последовательности (*orf*), кодирующие специфичные для ЦМС белки. Мужская фертильность может быть восстановлена ядерными генами восстановления фертильности пыльцы (*Rf*), белковые продукты которых специфически взаимодействуют с продуктами экспрессии aberrантных митохондриальных генов. ЦМС может возникать спонтанно у инбредных линий, но в большинстве случаев является результатом филогенетически отдаленных скрещиваний (Eckardt, 2006). Так, например, у однолетнего подсолнечника *Helianthus annuus* L. ЦМС впервые была получена в результате межвидового скрещивания *H. petiolaris* Nutt. и *H. annuus* L. (Leclercq, 1969). Этот тип ЦМС широко используется в селекции и носит название PET1. К настоящему времени у подсолнечника описано 72 источника ЦМС; все они получены на основе межвидовых гибридов. Молекулярные исследования выявили, что мужская стерильность многих типов ЦМС подсолнечника связана с экспрессией новой открытой рамки считывания, *orfH522*, ко-транскрибируемой с геном *atp1*. Ген *orfH522* кодирует связанный с мембраной белок с молекулярной массой около 15 кДа, который присутствует во всех тканях мужски-стерильных растений. Мужски-фертильный фенотип может быть восстановлен путем введения в генотип гибрида доминантных ядерных генов *Rf*, вызывающих специфическое снижение уровня ко-транскрипта *atp1-orfH522* в пыльниках в течение мейоза и сопутствующее снижение количества белка ORFH522 (Nizampatnam et al., 2009). По различным данным, для восстановления фертильности пыльцы форм подсолнечника с ЦМС PET1 необходимо от одного до четырех генов. Среди них ген *Rf1* является ключевым.

Широкое внедрение в производство скороспелых высокопродуктивных гибридов является наиболее эффективным путем повышения экономического потенциала подсолнечника. Лучшие гибриды превосходят районированные сорта по урожаю на 15–30 процентов, отличаются высокой выровненностью по высоте растений, дружностью созревания, большими размерами корзинки, что значительно облегчает механизированную уборку. Скороспелые гибриды на высоком агрофоне дают значительно больший экономический эффект, чем сорта и позднеспелые гибриды. Использование высокопродуктивных скороспелых гибридов в аграрном производстве дает возможность получать более высокие урожаи товарных семян подсолнечника.

Важным этапом работ по созданию межлинейных гибридов подсолнечника является селекция материнских стерильных линий на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) PET1 и отцовских линий, несущих доминантный ген восстановления фертильности пыльцы (*Rf1*). Для идентификации гена *Rf1* в генотипе отцовской линии ее скрещивают со стерильной материнской формой и анализируют фенотипы растений F1. В полевых условиях для тестирования отцовской линии по признаку восстановления фертильности пыльцы требуется не менее двух сезонов вегетации (включая проведение скрещиваний и оценку гибридов F1). Этот процесс может быть значительно упрощен благодаря молекулярным маркерам – фрагментам ДНК, сцепленным с локусом *Rf1*, либо полиморфным участкам самого гена. Для выявления гена *Rf* в генотипе отцовской линии при помощи молекулярных маркеров, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР), в среднем необходимо 2 недели (получение проростков, выделение ДНК, ПЦР-анализ). Таким образом, использование молекулярных маркеров генов *Rf* дает возможность значительно ускорить процесс создания родительских линий гибридов, а также эффективно контролировать их генетическую чистоту в процессе семеноводства.

При маркировании генов *Rf* различных растений используются два подхода. Один из них заключается в идентификации маркерных (в основном некодирующих) последовательностей, тесно сцепленных с локусом *Rf*. Данный подход эффективен для тех объектов, у которых существуют насыщенные молекулярно-генетические карты. Молекулярные маркеры, сцепленные с локусами *Rf*, необходимы также для проведения работ по идентификации генов восстановления фертильности на основе позиционного клонирования. Другой подход состоит в идентификации маркеров на основе полиморфизма кодирующих последовательностей генов *Rf*. Он позволяет идентифицировать функциональные и аллель-специфичные маркеры, и эффективен в том случае, когда известна нуклеотидная последовательность гена. Большинство охарактеризованных к настоящему времени генов *Rf* (петунии, кукурузы, риса, сорго, рапса, редиса, перца чили) принадлежат к особому семейству, которое кодирует белки, содержащие от 11 до 17 повторяющихся мотивов из 35 аминокислот (PPR – pentatricopeptide repeats) (Small, Peeters, 2000; Andres et al., 2007 и др.). Природа генов восстановления фертильности подсолнечника до сих пор не известна, что затрудняет разработку эффективных молекулярных маркеров для маркер-вспомогательной селекции.

Материалы и методы

Материалом настоящего исследования служили 133 инбредных линии коллекции ВИР, среди них 107 автофертильных линий, способность которых к восстановлению фертильности пыльцы подтверждена тест-скрещиваниями со стерильными линиями на основе ЦМС PET1 (ВИР 109 и ВИР 116), 9 линий ЦМС на основе двух типов стерильности – PET1 и RIG0 (ЦМС от дикого многолетнего вида *H. rigidus*) и их фертильные аналоги, 9 автофертильных линий, не

восстанавливающих фертильность пыльцы. Тест-скрещивания и анализ гибридов F1 проводили в полевых условиях на Кубанской опытной станции ВИР.

Геномную ДНК выделяли из этиолированных семядолей пятидневных проростков модифицированным СТАБ методом (Анисимова и др., 2010). Последовательности праймеров для амплификации SCAR-маркера HRG02, сцепленного с геном *Rf1*, и STS-маркера абберантного митохондриального гена *orfH522*, ассоциированного с ЦМС PET1, указаны в таблице 1. ПЦР проводили при условиях, рекомендованных авторами праймеров (Horn et al., 2003; Schnabel et al., 2008) с нашими модификациями. Рестрикционный анализ амплифицированных последовательностей осуществляли по протоколам фирмы-производителя (Fermentas, Литва).

Таблица 1. Характеристика использованных праймеров

Название праймеров	Последовательность (5' → 3') и ориентация (F – прямой, R – обратный)	Tm, °C	Ожидаемый размер продукта ПЦР, пн	Наблюдаемый размер продукта ПЦР, пн
orfH522	TGCCTCAACTGGATAAATTCAC (F) ACCGTTCTCTCACGAGTTGAAG (R)	60	16	516, 530, 540
HRG02	AAACGTGGGAGAGAGGTGG (F) AAACGTGGGCTGAAGAACTA (R)	59	740	740
QHL12D20	GTAAGCAACCCGAGAAAGCA (F) AGTTTCCGGTTTTCCCGTAT (R)	59	540	1170

Фрагменты экспрессируемых последовательностей (EST, Expressed Sequence Tags) были получены в рамках проекта по секвенированию генома сложноцветных (Compositae Genome Project, <http://www.cgp.edu/>). EST, гомологичные генам восстановления фертильности пыльцы, были идентифицированы в работах (Yue et al., 2007; Liu et al., 2012). Отбор последовательностей был проведен из биоинформационной базы данных Национального Центра Биотехнологической Информации (www.ncbi.nlm.nih.gov). Поиск гомологов генов *Rf* и PPR-мотивов осуществляли в поисковой системе BLAST (Basic Local Alignment Search Tool (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)).

Дизайн праймеров, комплементарных последовательностям EST – предполагаемым гомологам генов *Rf*, осуществлен с помощью программы Primer3Plus (<http://www.bioinformatics.nl/>). Условия для амплификации фрагментов подбирали опытным путем. Амплифицированные фрагменты были клонированы в векторе pAL-TA Vector (EVROGEN). Очистку ПЦР-продуктов из амплификационной смеси проводили в 1%-ном агарозном геле. Лигирование вектора со вставкой проводили согласно протоколу, рекомендованному фирмой Евроген (<http://evrogen.ru/kit-user-manuals/pAL-TA.pdf>). Для трансформации использовали штамм DH5L *E. coli*. Отбор клонов проводили при помощи ПЦР с праймерами M13. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле и отбирали клоны со вставкой нужного размера. Секвенирование проводили на приборе ABI 3500x1 в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (ВНИИСХМ РАСХН). Выравнивание полученных последовательностей и их анализ проводили с помощью программы MEGA version 4 (Tamura et al., 2007).

Электрофорез амплифицированных фрагментов проводили в 1,8%-ном агарозном геле в 1xTBE и окрашивали бромистым этидием. В качестве маркеров молекулярного веса использовали EZ Load 100 bp PCR Molecular Ruler (Bio-Rad), 100

bp DNA Ladder (Fermentas) и M100bp DNA Ladder (Dialat). Все эксперименты выполнены в 2–4 повторностях.

Реактивы для ПЦР были получены от фирмы Диалат (<http://www.dialat.ru>). Прочие расходные материалы для проведения ПЦР и электрофореза были предоставлены фирмой Хеликон (<http://www.helicon.ru>). Праймеры были синтезированы ЗАО Евrogen (Москва) и ООО «Бигль» (Санкт-Петербург).

Результаты и обсуждение

Генетическое разнообразие инбредных линий по компонентам генетической системы ЦМС-Rf было структурировано с использованием диагностического SCAR-маркера HRG02, сцепленного с ядерным локусом *Rf1* (Horn et al. 2003), а также STS-маркера митохондриального гена *orfH522*, ассоциированного с ЦМС PET1 (Schnabel et al., 2008) (рис. 1, табл. 2). При сопоставлении данных молекулярного анализа с результатами тест-скрещиваний оказалось, что SCAR-маркер HRG02 выявлял присутствие гена восстановления фертильности у 73 линий-восстановителей. Следует отметить, что большинство автофертильных линий, у которых был идентифицирован маркер HRG02, являются восстановителями, т. е. восстанавливают фертильность пыльцы гибридов при скрещиваниях с линиями, обладающими ЦМС PET1. Отсутствие молекулярных маркеров гена *Rf1* у отдельных линий, восстанавливающих фертильность пыльцы при скрещивании с линией ЦМС, может указывать на наличие других генов, участвующих в контроле признака, либо на изменчивость самих маркерных последовательностей. Во втором случае отсутствие продукта амплификации (маркера) можно объяснить изменениями последовательностей, комплементарных праймеру, возникшими в результате мутаций или рекомбинаций.

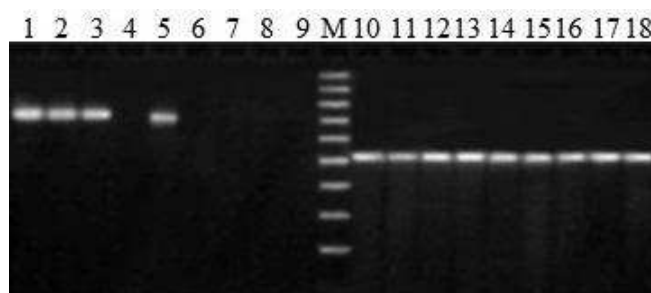


Рис. 1. Продукты амплификации геномной ДНК отдельных растений автофертильных линий подсолнечника с праймерами HRG02 (1–9) и *orfH522* (10–18):

1, 2, 10, 11 – ВИР 778; 3, 12 – ВИР 780; 4–6, 13–15 – ВИР 801; 7–9, 16–18 – ВИР 902;

М – маркер молекулярной массы

Митохондриальный маркер *orfH522* выявлен у 93 автофертильных линий. Все они являются восстановителями фертильности пыльцы PET1. Таким образом, линии со стерильной (ЦМС PET1) цитоплазмой могут рассматриваться как надежные источники гена восстановления фертильности для селекции родительских форм гибридов, а STS-маркер митохондриального гена *orfH522* перспективен для эффективного контроля присутствия гена восстановления фертильности в генотипе инбредной линии. Интересно отметить, что все линии, закреплявшие стерильность в тест-скрещиваниях с линиями ЦМС PET1, характеризовались отсутствием митохондриального маркера *orfH522*. У 7 линий (ВИР 210, ВИР 260, ВИР 343, ВИР 369, ВИР 635, ВИР 638, ВИР 900) впервые выявлена гетероплазмия по наличию-отсутствию амплифицированного фрагмента *orfH522*, а также его размеру, что указывает на отличия в организации их митохондриального генома от форм с ЦМС PET1.

Таблица 2. Результаты молекулярного скрининга линий генетической коллекции

Название	Всего линий	Наличие маркера	
		HRG02	orfH522
RIL 38, RIL 80, RIL 130, RIL 228, ВИР 220, ВИР 249, ВИР 254, ВИР 263, ВИР 358, ВИР 376, ВИР 386, ВИР 395, ВИР 397, ВИР 437, ВИР 438, ВИР 480, ВИР 490, ВИР 558, ВИР 581, ВИР 582, ВИР 583, ВИР 584, ВИР 630, ВИР 631, ВИР 632, ВИР 633, ВИР 634, ВИР 636, ВИР 637, ВИР 639, ВИР 640, ВИР 650, ВИР 652, ВИР 656, ВИР 658, ВИР 681, ВИР 684, ВИР 697, ВИР 699, ВИР 700, ВИР 702, ВИР 703, ВИР 704, ВИР 705, ВИР 709, ВИР 741, ВИР 752, ВИР 753, ВИР 754, ВИР 758, ВИР 759, ВИР 761, ВИР 762, ВИР 764, ВИР 766, ВИР 767, ВИР 768, ВИР 771, ВИР 772, ВИР 773, ВИР 776, ВИР 778, ВИР 780, ВИР 792, ВИР 793	65	+	+
ВИР 171* , ВИР 211 , ВИР 218, ВИР 349, ВИР 371 , ВИР 387 , ВИР 450, ВИР 502 , ВИР 503 , ВИР 653, ВИР 645, ВИР 720 , ВИР 740, ВИР 743, ВИР 763	15	+	–
ВИР 195, ВИР 196, ВИР 200, ВИР 364, ВИР 365, ВИР 378, ВИР 381, ВИР 388, ВИР 394, ВИР 412, ВИР 644, ВИР 729, ВИР 751, ВИР 801, ВИР 902, ВК 571	16	–	+
ВИР 160 , ВИР 262, ВИР 302, ВИР 366 , ВИР 372, ВИР 377, ВИР 449, ВИР 453	8	–	–
ВИР 900, ВИР 635, ВИР 638	3	+	+/-
ВИР 183, ВИР 234, ВИР 696, ВИР 726, ВИР 735	5	+/-	+
ВИР 260, ВИР 343, ВИР 369	3	+/-	+/-
ВИР 210	1	–	+/-
ВИР 101А**, ВИР 109А, ВИР 114А, ВИР 116А, ВИР 117А, ВИР 130А, ВИР 151А, ВИР 471А	8	–	+
ВИР 101Б, ВИР 109Б, ВИР 114Б, ВИР 116Б, ВИР 117Б, ВИР 130Б, ВИР 151Б, ВИР 471 Б	8	–	–

*Примечание: жирным шрифтом выделены линии, закреплявшие стерильность в тест-скрещиваниях.

** Линии на основе ЦМС РЕТ1.

Поскольку фрагмент, синтезируемый с праймерами orfH522, специфичен для мтДНК ЦМС РЕТ1, можно предположить, что линии, на ДНК которых амплифицировался фрагмент orfH522, имели в своих родословных генотипы с ЦМС РЕТ1. К числу таких форм относятся поступающие в различное время в коллекцию коммерческие гибриды, которые использовались на разных этапах формирования коллекции при создании перспективных для использования в селекции линий-восстановителей (Гаврилова, Рожкова, 2005). Метод самоопыления («разложения» на линии) коммерческих гибридов широко используется в селекции материнских и отцовских форм гибридов подсолнечника (De Carvalho, De Toledo, 2008). Данный подход позволяет быстро и эффективно отбирать генотипы, несущие доминантные аллели генов восстановления фертильности. Получаемые таким путем линии имеют стерильную цитоплазму и способны продуцировать жизнеспособную пыльцу лишь при наличии в генотипе доминантного гена *Rf*. В то же время носители рецессивных

аллелей автоматически отбраковываются, поскольку не завязывают семена при самоопылении вследствие мужской стерильности. Селекция восстановителей фертильности на стерильной основе получила широкое распространение: это помогает их поддержанию в чистоте и способствует выбраковке растений, потерявших доминантный аллель гена *Rf* в результате случайного переопыления.

Линии генетической коллекции подсолнечника, у которых по результатам молекулярного скрининга идентифицирована стерильная (PET1) цитопlasма, рекомендованы в качестве модели для выяснения молекулярных механизмов ядерно-цитоплазматических взаимодействий, определяющих феномен восстановления фертильности форм с ЦМС. Традиционно, для выявления в генотипе генов, восстанавливающих фертильность, и изучения особенностей их экспрессии проводят тест-скрещивания с линиями ЦМС и анализируют растения F1. Предлагаемые модельные объекты сочетают в одном генотипе вызывающие мужскую стерильность аберрантные митохондриальные гены и супрессирующие их ядерные факторы *Rf* в гомозиготном состоянии. При реализации данного подхода для выявления и оценки характера экспрессии генов *Rf* исключается необходимость проведения скрещиваний. Кроме того, линии несут гены в гомозиготном состоянии, что предпочтительнее для такого рода исследований, ввиду возможного влияния межаллельных взаимодействий на проявление признака у форм с гибридным геномом.

Реализация второго подхода к молекулярному маркированию генов *Rf* подсолнечника сопряжена с определенными трудностями, поскольку их природа до сих пор не изучена. Ключ к решению этих проблем дает установленный Н. И. Вавиловым в 1920 г. закон гомологических рядов в наследственной изменчивости, согласно которому параллелизм в фенотипической изменчивости отражает гомологию в наследственной изменчивости (Вавилов, 1965). Закон гомологических рядов позволяет идентифицировать гены известной функции, структура которых пока не известна. К настоящему времени получены многочисленные данные, показывающие, что гены, отвечающие за идентичные признаки у различных организмов, гомологичны по структуре, т. е. сходны по последовательности нуклеотидов. Метод идентификации генов, выполняющих в разных организмах сходные функции, путем поиска гомологов в базах данных нуклеотидных последовательностей широко используется в исследованиях геномов высших растений. Особенно эффективным данный подход оказался при использовании в качестве источников информации баз данных экспрессируемых последовательностей (EST). Для идентификации и картирования генов, нуклеотидные последовательности которых различаются у генотипов с различным проявлением кодируемых ими признаков, на основе EST могут быть разработаны функциональные маркеры. В работах (Yue et al., 2007; Liu et al., 2012) идентифицированы последовательности EST подсолнечника, гомологичные клонированному и секвенированному гену восстановления фертильности петунии. На основе этих последовательностей авторы разработали TRAP (Target Region Amplified Polymorphism) -маркеры. Однако им не удалось связать выявленный полиморфизм с функциональным состоянием локуса *Rf1*, а также локализовать идентифицированные фрагменты на генетической карте, что, по-видимому, объясняется доминантным характером наследования данного типа маркеров, а также невысоким уровнем их специфичности. Тем не менее, один из TRAP-маркеров, созданный на основе EST-фрагмента QHL12D20, гомологичного гену *Rf1* *Petunia* × *hybrida*, расщеплялся вместе с признаком восстановления фертильности пыльцы форм с ЦМС PET1, детерминируемым геном *Rf1*, и был успешно использован в экспериментах по маркер-вспомогательной селекции для отбора предполагаемых носителей рецессивного гена *rf1* из расщепляющейся гибридной популяции (Yue et al., 2007).

С целью разработки функционального маркера предполагаемого гена восстановления фертильности пыльцы подсолнечника мы изучили полиморфизм

фрагмента EST QHL12D20. Размер фрагмента, амплифицированного с праймерами QHL12D20 (см. табл. 1), оказался примерно на 600 пн больше ожидаемого, что указывало на присутствие интрона в его внутренней части. Амплифицированные фрагменты были клонированы и секвенированы. У линий ВИР 114А РЕТ1, ВИР 151А RIG0, ВИР 109А RIG0, ВИР 101А RIG0, RIL 80, ВИР 377 длина амплифицированного фрагмента оказалась равной 1174 пн, а у линий ВИР 740, ВИР 558 и ВИР 387 и линии ВИР 130 (характеризуется генетической нестабильностью, Анисимова и др., 2009) составила 1167 пн. Длина экзона у всех генотипов составила 540 пн; длина интрона у линий первой группы равнялась 634 пн, а у линий второй группы 627 пн.

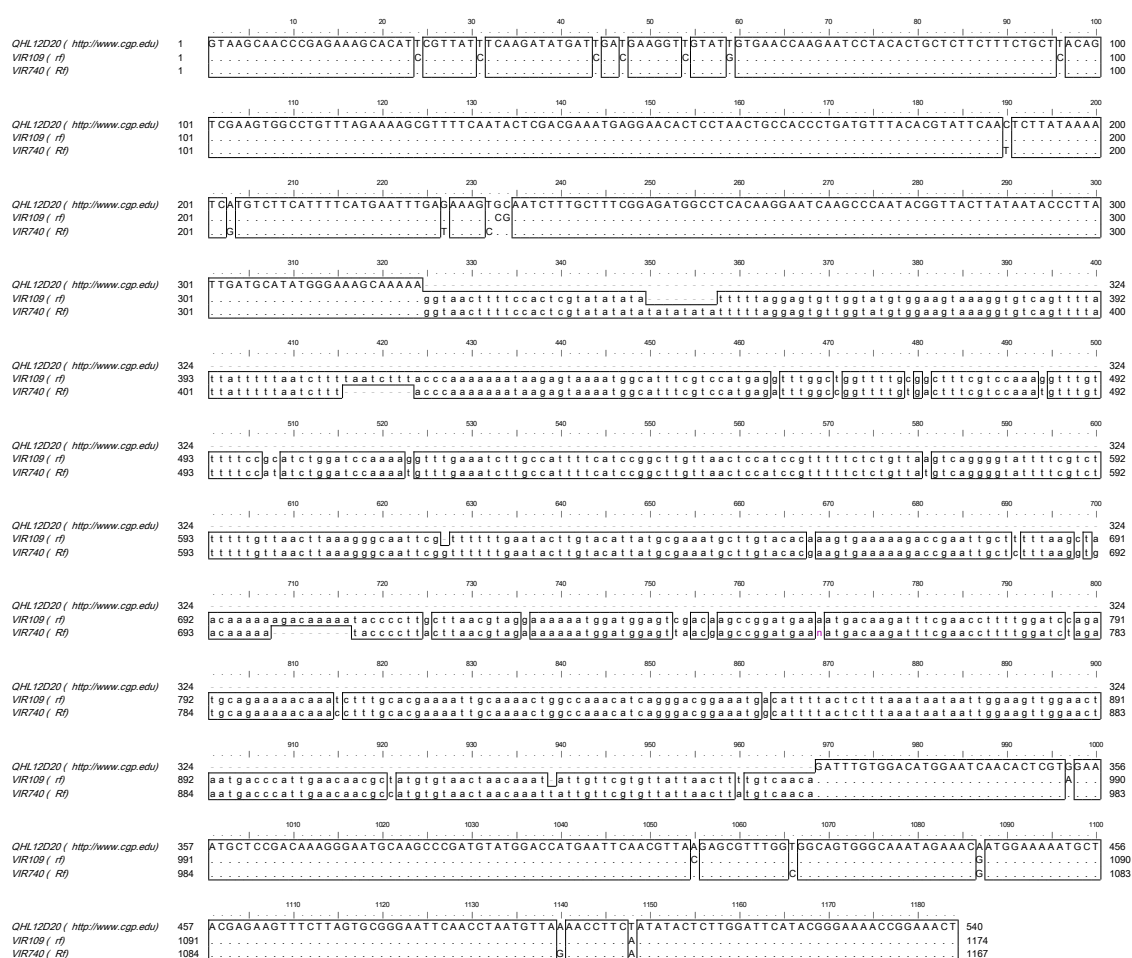


Рис. 2. Вываривание нуклеотидных последовательностей фрагмента EST QHL12D20, полученного из базы данных секвенированного генома подсолнечника (<http://www.cgr.edu/>) и секвенированных в настоящей работе гомологов из стерильной линии ВИР 109 и линии-восстановителя фертильности пыльцы ВИР 740
Гомологичные участки обведены линией. Прописными буквами обозначена последовательность экзонов, строчными – интрон.

Согласно современным представлениям, генетические факторы восстановления фертильности пыльцы растений принадлежат к семейству *RFL-PPR* (Restorer-of-Fertility-Like-PPR, Fujii et al., 2011) генов либо локализованы в районах, богатых PPR-мотивами. Предполагается, что изменчивость нуклеотидных последовательностей *RFL-PPR* генов является источником разнообразия аллелей, продукты которых способны к специфическому взаимодействию с продуктами экспрессии ассоциированных с фенотипом ЦМС генов митохондрий. Результаты секвенирования амплифицированного фрагмента QHL12D20 показали, что фрагмент содержит 3 PPR-

мотива, характерных для генов *Rf* растений, и включает интрон длиной около 630 пн (рис. 2).

При обработке амплифицированного фрагмента QHL12D20 рестриктазами *Hae*III и *Msp*I выявлен полиморфизм спектров рестрикции, обусловленный заменой единичного нуклеотида в локализованном в интроне сайте узнавания ферментом. Так, например, в последовательностях ампликонов QHL12D20 линии-восстановителя фертильности пыльцы ВИР 740 (генотип *Rf1Rf1*) выявлено четыре сайта узнавания рестриктазой *Hae*III. Соответственно, при обработке рестриктазой ампликоны QHL12D20 линии ВИР 740 расщеплялись на пять фрагментов размером около 110, 150, 210, 360 и 400 пн. Такой вариант фрагмента обозначен QHL12D20_1. Ампликоны QHL12D20 стерильной линии ВИР 109А (генотип *rf1rf1*) характеризовались присутствием трех сайтов узнавания рестриктазой *Hae*III и расщеплялись в сайтах GGCC на четыре фрагмента размером примерно 110, 150, 360 и 610 пн (вариант QHL12D20_2). Отличия последовательностей двух генотипов были обусловлены заменой нуклеотида С на Т в позиции 466 у линии ВИР 109А РЕТ1. Сравнительный анализ профилей рестрикции фрагмента QHL12D20 показал, что линии ЦМС и закрепители стерильности (генотип *rf1rf1*) характеризовались вариантом L12D20_2. Вариант L12D20_1 выявлен у большинства восстановителей фертильности, несущих функциональный (доминантный) аллель в локусе *Rf1* и обладающих стерильной (РЕТ1) цитоплазмой. Для 10 линий (линий ЦМС ВИР 101, ВИР 109 и ВИР 151 на основе RIG0, линий ЦМС ВИР 114 и ВИР 130 на основе РЕТ1, восстановителей фертильности пыльцы RIL80, ВИР 558 и ВИР 740, а также закрепителей стерильности ВИР 377 и ВИР 387) выполнен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента QHL12D20 по 537 нуклеотидным сайтам. В целом в строении экзона выявлено 15 полиморфных сайтов, из которых 8 с различиями по типу транзиции и 7 – по типу трансверсии. Линии с идентичными вариантами интрона (QHL12D20_1 или QHL12D20_2) оказались близкими и по структуре экзона. Различия в нуклеотидных последовательностях экзона между линиями с вариантами QHL12D20_1 и QHL12D20_2 оказались более существенными. Они различались 9 нуклеотидными заменами, среди которых 5 – несинонимичные. В F1 от скрещивания стерильной линии (генотип *rf1rf1*) с линией-восстановителем фертильности (генотип *Rf1Rf1*) наблюдали кодоминантное наследование спектров рестрикции. На основе выявленного полиморфизма QHL12D20 разработан CAPS-маркер, который будет использован для локализации этого фрагмента на генетической карте (рис. 3).

Отобраны контрастные формы, различающиеся по типам цитоплазмона (стерильный-фертильный), вариантам фрагмента QHL12D20, молекулярным маркерам, а также морфологическим признакам; выполнены межлинейные скрещивания; получены семена F1 гибридов, на основе которых будут созданы расщепляющиеся гибридные популяции для локализации гомологов генов восстановления фертильности пыльцы на генетической карте подсолнечника.

Заключение и выводы

Линии генетической коллекции подсолнечника, у которых с помощью молекулярных маркеров идентифицирована стерильная (РЕТ1) цитоплазма, могут служить модельными объектами для изучения механизмов ядерно-цитоплазматических взаимоотношений, поскольку в их генотипах одновременно присутствует митохондриальный ген *orfH522*, обуславливающий мужскую стерильность, и ядерный ген *Rf*, супрессирующий негативные эффекты аберрантного митохондриального генома.

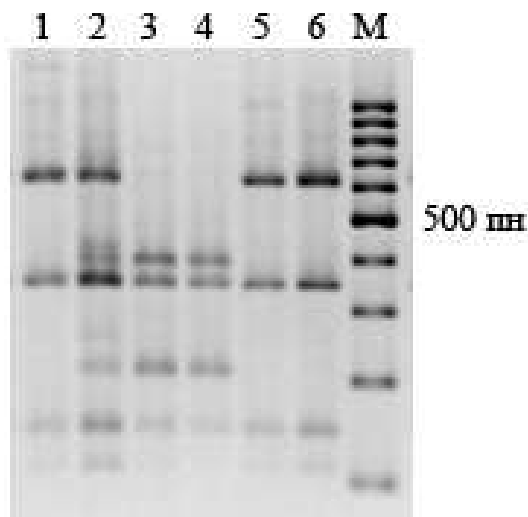


Рис. 3. Электрофореграммы фрагментов, полученных после обработки рестриктазой HaeIII продуктов, амплифицированных на ДНК различных генотипов с использованием праймеров QHL12D20:

1 – ВИР 109А (РЕТ1), 2 – межлинейный гибрид (ВИР 109А × ВИР.558), 3 – ВИР 558, 4 – ВИР 792, 5 – ВИР 503, 6 – ВИР 502,

М – маркер молекулярной массы Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (Fermentas)

Полиморфные варианты геномного фрагмента QHL12D20, содержащего PPR-мотивы, ассоциированы с функциональным состоянием локуса *Rf1*. Линии с ЦМС РЕТ1 характеризуются вариантом QHL12D20_2, подавляющее большинство линий-восстановителей фертильности пыльцы обладают вариантом QHL12D20_1. Варианты QHL12D20_1 и QHL12D20_2 наследуются ко-доминантно и, следовательно, могут быть использованы в качестве диагностических маркеров для идентификации гибридности семян. Кроме того, разработанный в настоящем исследовании CAPS-маркер перспективен для использования в исследованиях по картированию *PPR-RFL*-генов в геноме подсолнечника.

Литература

- Анисимова И. Н., Туманова Л. Г., Гаврилова В. А., Дягилева А. В., Паша Л. И., Митин В. А., Тимофеева Г. И. Нестабильность генома межвидовых гибридов подсолнечника // Генетика. 2009. Т. 45. № 8. С. 1067–1077.
- Анисимова И. Н., Алпатьева Н. В., Тимофеева Г. И. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле : Методические указания ВИР / под ред. Е. Е. Радченко. СПб.: ВИР, 2010. 30 с.
- Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. // Избранные труды. М.-Л.: Наука, 1965. Т. 5. С. 179–222.
- Гаврилова В. А., Рожкова В. Т. Доноры восстановления фертильности пыльцы линий ЦМС подсолнечника для гетерозисной селекции // Идентифицированный генофонд растений и селекция / под ред. Б. В. Ригина и Е. И. Гаевской. СПб.: ВИР, 2005. С. 377–379.
- Иванов М. К., Дымишиц Г. М. Цитоплазматическая мужская стерильность и восстановление фертильности пыльцы у высших растений // Генетика. 2007. Т. 43. № 4. С. 437–576.
- Andres C., Lurin C., Small I. D. The multifarious roles of PPR proteins in plant mitochondrial gene expression // *Physiol. Plant.* 2007. V. 129. № 1. P. 14–22.

- De Carvalho C. G. P., De Toledo J. F. F.* Extracting female inbred lines from commercial sunflower hybrids // *Pesq. Agropec. Bras.* 2008. № 9. P. 1159–1162.
- Eckardt N. A.* Cytoplasmic male sterility and fertility restoration // *The Plant Cell.* 2006. V. 18. P. 515–517.
- Fujii S., Bond Ch. S., Small I. D.* Selection patterns on restorer-like genes reveals a conflict between nuclear and mitochondrial genomes throughout angiosperm evolution // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011. V. 108. № 4. P. 1723–1728.
- Horn R., Kusterer B., Lazarescu E., Prufe M., Friedt W.* Molecular mapping of the Rf1 gene restoring fertility in PET1-based F1 hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 106. № 4. P. 599–606.
- Leclercq P.* Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol // *Ann. Amélior. Plant.* 1969. V. 19. № 3. P. 99–106.
- Liu Z., Mulpuri S., Feng J., Vick B. A., Jan C. C.* Molecular mapping of the Rf3 fertility restoration gene to facilitate its utilization in breeding confection sunflower // *Mol. Breed.* 2012. V. 29. № 2. P. 275–284.
- Nizampatnam N. R., Doodhi H., Narasimhan Y. K., Mulpuri S., Viswanathaswamy D. K.* Expression of sunflower cytoplasmic male sterility-associated open reading frame, orfH522 induces male sterility in transgenic tobacco plants // *Planta.* 2009. № 229. P. 987–1001.
- Rhoades M. M.* Cytoplasmic inheritance of male sterility in *Zea mays* // *Science.* 1931. V. 73. № 1891. P. 340–341.
- Schnabel P. S., Wise R. P.* The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration // *Trend Plant Sci.* 1998. № 5. P. 175–180.
- Small I. D., Peeters N.* The PPR motif-a TRP-related motif prevalent in plant organellar proteins // *Trends Biochem. Sci.* 2000. V. 25. № 2. P. 46–47.
- Yue B., Miller J. F., Hu J.* Experimenting with marker assisted selection in confection sunflower germplasm enhancement / *Proceeding of 29th Sunflower Research Forum, January 2007. Fargo, ND.* <http://www.sunflowernsa.com/research/research-workshop/>.

СОРТОВОЙ ГЕНОФОНД МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР В КАЗАХСТАНЕ

А. И. Аbugалиева¹, Т. Б. Азгалиев², А. Ж. Жумаханова², Л. Долгих¹

¹Институт земледелия и растениеводства, Алматы, Казахстан,
e-mail: kiz_abugaliyeva@mail.ru

²ГСИ МСХ РК, Астана-Алматы, Казахстан,
e-mail: azhgaliev_tb@mail.ru; aizhan_80@mail.ru

Резюме

Сортные ресурсы масличных культур в Казахстане представлены 45 сортами и гибридами подсолнечника, 6 сортами сафлора, 23 – рапса, 20 – сои, 7 – льна и 1– 4 сортами кукурузы, клещевины, рыжика и горчицы.

Для рапса выявлены сорта, семена которых содержат в среднем более 46,5% масла: Русич, Гладиатор, НПС 0607, Ликолли, Джерри, ДК 71-20, Золотонивский, Кавиар, Юбилейный. Анализ интегральной оценки качества масла (Долгих, Аbugалиева, 2010) позволил ранжировать исследованные сорта в соответствии с показателями качества следующим образом: Майбулак, Липецкий, Сафия, ДК 71-2, Майлы, Юбилейный, Гладиатор. Рапс отличается повышенным содержанием олеиновой кислоты: от 58,0% (для сортов Майбулак, Липецкий) до 65,8% (Гладиатор). Для рапса установлено высокое соотношение «ненасыщенных/насыщенных жирных кислот», варьирующее от 6,70 (Липецкий) до 7,80 (Юбилейный). Антипитательная эруковая кислота содержится в пределах от 0,17% (Юбилейный) до 1,83% (Майлы).

В Республике Казахстан допущены к использованию 32 гибрида и 13 сортов подсолнечника. Содержание масла в семенах подсолнечника варьирует в широких пределах от 33,2% до 55,6%. По сбору масла с гектара выделяются генотипы Канди, Брио, Казахстанский 1, Юбилейный 40, ЛГ 5635, Принтасол, Скороспелый 87, ПР 64 Г-46, ПР 63 А62. Как показано в результате исследований, масличность семян сафлора колеблется в пределах 20,0–43,3%. Сафлоровое масло содержит 76–82% линолевой кислоты, это самый высокий показатель среди производимых в республике растительных масел. Масличность этих семян на абсолютно сухое вещество составляет 36%, на ядро – 52,7%. Содержание линолевой кислоты в сортах Казахстана колеблется от 67,5% (Акмай) до 73,9% (Нурлан), соотношение «ненасыщенные/насыщенные жирные кислоты» варьирует от 5,79 (Аккызыл и Акмай) до 7,69 (сорт Нурлан). При этом содержание эруковой кислоты минимально для сорта Акмай (0,04%), максимально – для сорта Аккызыл (0,27%). Содержание масла в зерне сортов сои варьировало от 18,0% до 26,9% в системе ГСИ в зависимости от условий и года репродукции. Максимальным содержанием масла отличались сорта Аннушка (22,2–25,4%) и Мавка (21,6–25,9%). Сорт сои Алматы характеризовался наиболее высоким содержанием олеиновой кислоты (до 35%), а сорт Жалпаксай – высоким содержанием линолевой кислоты (47,5%) и витамина F (до 58,4%).

Ключевые слова: рапс, подсолнечник, сафлор, соя, содержание масла.

GENETIC DIVERSITY OF OIL CROPS IN KAZAKHSTAN

A. I. Abugaliyeva¹, T. B. Azhgaliev², A. Zh. Zhumahanova², L. Dolgih¹

¹The Kazakh scientific research institute of agriculture and plant growing, Almaty, Kazakhstan, e-mail: abugaliyeva@mail.ru

²SVT MA RK, Astana-Almaty, Kazakhstan, e-mail: azhgaliev_tb@mail.ru; aizhan_80@mail.ru

Summary

Varietal resources of oil crops in Kazakhstan are represented by 40 varieties and hybrids of sunflower, 6 varieties of safflower, 23 of rapeseed, 20 of soybean, 7 of flax, and 1 to 4 varieties of maize, castor bean, false flax and mustard.

For rapeseed, varieties have been identified to contain at the average more than 46.5% of oil: Rusich, Gladiator, NPC 0607, Likolli, Jerry, DC 71-20, Zolotonivsky, Caviar, and Yubileyny. The analysis of integral oil quality evaluation [Dolgi, Abugalieva, 2010] made it possible to rank the studied varieties according to oil quality in the following order: Maibulak, Lipetsky, Safia, DK 71-2 Mayly, Yubileyny, Gladiator. Rapeseed is known to have increased oleic acid content: from 58.0% (Maibulak, Lipetsk) to 65.8% (Gladiator), and a high ratio of unsaturated/saturated fatty acids: from 6.70 (Lipetsky) to 7.80 (Yubileyny). Antinutrient erucic acid is within the range from 0.17% (Yubileyny) to 1.83% (Mayly).

Authorized for cultivation in Kazakhstan are 32 hybrids and 13 varieties of sunflower. Oil content in sunflower seed broadly varies from 33.2% to 55.6%. Genotypes outstanding for oil harvest per hectare are Kandy, Brio, Kazakhstansky 1, Yubileyny 40, LG 5635, Printasol, Skorospely 87, PR 64, G-46, PR 63, and A62. Research results have shown that oil content in safflower seed varies within 20.0–43.3%. Safflower oil contains 76–82% of linoleic acid; it is the highest rate among the vegetable oils produced domestically. Seed oil content is 36%, as recalculated for absolutely dry matter. Linoleic acid content in Kazakhstan varieties ranges from 67.5% (Akmai) to 73.9% (Nurlan); the ratio of unsaturated/saturated fatty acids varies from 5.79 (Akkyzyl and Akmai) to 7.69 (Nurlan). With this, the content of erucic acid is minimal for Akmai (0.04%) and maximal for Akkyzyl (0.27%). Seed oil content in soybean varieties ranged from 18.0% to 26.9% in the SVT system, depending on the environmental conditions and the year of reproduction. The maximum oil content was observed in the varieties Annushka (22.2–25.4%) and Mavka (21.6–25.9%). The soybean variety Almaty is characterized by the highest content of oleic acid (35%), while the variety Zhalpaksay by high content of linoleic acid (47.5%) and Vitamin F (up to 58.4%).

Key words: rapeseed, sunflower, safflower, soybean, oil content.

Введение

Среди различных видов растительных масел особым спросом традиционно пользуется подсолнечное масло, но в последние годы существенно выросло также потребление рапсового, соевого, сафлорового и других.

Семена масличных культур, и в частности рапса, имеют характерный химический состав, включающий эруковую кислоту и гликозинолаты, количественное содержание которых определяет направление использования: пищевое или техническое.

Цель данной работы – изучить содержание масла в семенах испытываемых, перспективных и допущенных к использованию сортов рапса, подсолнечника, сои, сафлора отечественной и иностранной селекции, используемых в Республике Казахстан, и определить потенциал масличных культур.

Материалы и методы

Материал исследования – образцы ярового рапса, подсолнечника, сои, сафлора казахстанской, российской и зарубежной селекции, проходившие конкурсное и производственное испытание в основных зонах Казахстана.

Лабораторные исследования по определению количества и качества масла в семенах испытываемых сортов проведены согласно ГОСТ: ГОСТ 10857-64 – «Семена масличные. Метод определения масличности» в аппарате Сокслета; ГОСТ 30418 – «Масла растительные. Метод определения жирно-кислотного состава». Содержание белка определяли по Къельдалю (ГОСТ 10846-91. – «Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка»). Для классификации сортов по нескольким показателям применена интегральная оценка и статистическая обработка данных по алгоритмам и программным средствам, разработанным в лаборатории биометрии и информатики ТОО «Казахского НИИ земледелия и растениеводства» (Савин и др., 1998).

Результаты исследований

На сегодняшний день площади, занимаемые масличными культурами, растут и структурируются в зависимости от потребности и развития рынка (табл. 1).

Таблица 1. Площади, занимаемые масличными культурами в Казахстане (тыс. га)

Культура	1940 г.	1956 г.	2009 г.	2012 г.
Рапс яровой	—	—	163,8**	207,8**
Подсолнечник	164,9*	300,5*	687,2**	237,4**
Сафлор	—	—	124,1**	141,0**
Соя	—	—	52,8**	19,8**
Лен	8,4*	55,4*	2,4**	331,2**
Горчица	—	16,9*	1,2**	21,2**

*Данные ГСИ МСХ СССР, 1958.

**Данные МСХ РК, 2012.

Рапс яровой характеризуется коротким вегетационным периодом, для его роста и развития требуется сумма эффективных температур 1600–1800°C, он поглощает относительно немного воды на формирование 1 ц семян. Биологические свойства этой культуры обусловили ее широкое распространение от субтропиков Индии до Канады. Рапс с учетом требований к теплу и воде можно возделывать во многих регионах республики, что подтверждается ростом площадей под этой культурой. В Казахстане допущено к использованию 23 сорта ярового и озимого рапса германской (14), российской (5) селекции и по одному сорту селекции США («Пионер»), Швейцарии, Украины и Казахстана. Содержание масла в растениях и его качество зависят от сорта растения, условий произрастания (удобрения, агротехника), а свойства растительного масла определяются составом и содержанием жирных кислот.

Продуктами переработки рапса являются рапсовое масло и жмых, используемый в производстве комбикормов для животных. Масличность – один из основных показателей качества рапса. Содержание масла в семенах рапса в производственном и конкурсном испытании в Республике Казахстан составило от 35,1 до 50,7%. Максимальное содержание масла в семенах, по данным испытаний, у сорта НПЦ 0607 немецкой фирмы «НПЦ Лембке» составило 47,7% в 2008 г. Из районированных сортов максимальное содержание масла (50,7%) в производственных посевах отмечено у сорта Кавиар швейцарской селекции и у российского сорта Золотонивский. Минимальное содержание масла (до 27,2 %) отмечено в 2006 г. у сорта Юбилейный, существенно не повлиявшее на среднеголетний показатель масличности (свыше 45%), но отделивший его при кластерной обработке данных. Средний показатель масличности по всем регионам выращивания рапса и по всем сортам составил свыше 46,8%, что вполне удовлетворяет требованиям современного рынка. Варьирование показателей содержания масла в семенах рапса по сортам приведены в таблице 2 (Долгих, Абугалиева, 2010).

Для удобства математической обработки полученных данных использовали условный показатель – балл, в соответствии с которым диапазон варьирования содержания масла у исследованных сортов поделен на группы. На дендрограмме (см. рис.) показано сходство–различие сортов рапса по содержанию масла, позволившее сгруппировать испытываемые сорта по частоте встречаемости генотипов с разным уровнем масличности. Первая группа объединила сорта: НПЦ 0507, 601 С, Белинда, Майбулак, Липецкий, Хайлайт, ПР 45 Н 72, Хантер, Абилити, Сафия. Это сорта со средним содержанием масла в семенах, составляющим 2,5 балла. Вторая группа

объединила в себе 3 подгруппы: а) Герос, Сенсор (НПЦ 0407), Адина, Калибр, Лариса, Джером, РЖС 3006, НПЦ ЗР 11109, Траппер (НПЦ 0707), средняя масличность которых составляет 3,5–4 балла; б) группа – Сиеста, Майлы, Лизора, НПЦ ЗР 11009, НПЦ ЗР 10909, Хидалго – соответствует 4 баллам масличности; в) группа – Русич, ПР 45 Н 72, Гладиатор, СВ 5001, НПЦ 0607, НПЦ ЗР 11209, Ликолли, Джерри – со средней масличностью 4–4,5 балла.

Таблица 2. Изменчивость содержания масла в семенах сортов рапса

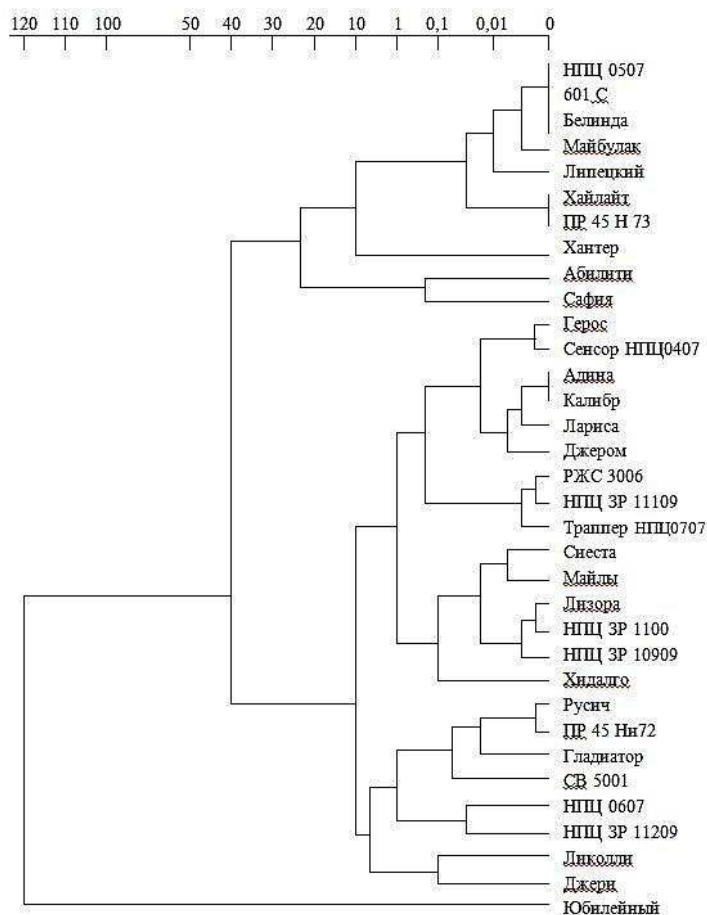
Наименование сорта	Содержание масла в семенах (%)		
	min	max	ср.
Абилити	35,6	45,8	43,3
Белинда	39,3	39,3	39,3
Герос	42,7	45,5	43,2
Гладиатор	42,8	47,0	44,0
ДК 71 20 кл	41,7	46,2	47,7
Золотонивский	40,4	50,7	44,8
Кавиар	38,1	50,7	45,0
Калибр	44,1	46,5	45,3
Ликолли	39,0	46,7	42,7
Майбулак	38,0	40,2	39,0
Майлы	37,5	43,6	41,3
НПЦ ЗП 11009	43,3	45,5	44,4
Сенсор (НПЦ 0407)	42,0	44,9	43,4
НПЦ 0607	45,6	47,7	46,3
Траппер (НПЦ 0707)	41,8	42,9	42,3
НПЦ ЗП 10909	40,8	45,5	43,1
НПЦ ЗП 11109	40,5	45,9	42,9
НПЦ ЗП 11209	39,9	44,6	42,2
ПР 45 Н 72	44,1	45,8	44,9
Русич	43,4	46,1	44,7
Сиеста	38,5	45,2	42,3
Сафия	35,1	41,4	38,4
Хантер	36,4	45,0	34,1
Хидалго	39,3	45,2	42,3
Юбилейный	27,2	48,5	41,9
Пределы	27,2	50,7	46,8

В Республике Казахстан допущены к использованию 32 гибрида и 13 сортов подсолнечника. Содержание масла в семенах подсолнечника варьирует в широких пределах от 33,2 до 55,6%. По сбору масла с гектара выделяются генотипы: Канди, Брио, Казахстанский 1, Юбилейный 40, ЛГ 5635, Принтасол, Скороспелый 87, ПР 64 Г-46, ПР 63 А62.

По результатам кластерного анализа выделены сорта Русич, Гладиатор, НПЦ 0607, Ликолли, Джерри, ДК 71-20, Золотонивский, Кавиар, Юбилейный со средней масличностью за время испытаний не ниже генеральной средней для всех сортов, т. е. не ниже 46,5%.

В урожаях 2008–2012 гг. отмечено повышенное содержание масла в семенах рапса относительно урожаев предыдущих лет (1998–2008 гг.) (Долгих, Абугалиева, 2010). Так, при передаче оригинаторами сорт SRMH характеризовался содержанием масла 45,3%, сорт Роксан – 46,1%, Калибр – 47,1%, Титан – 47,7%. В урожаях 2009–2012 гг. рапс испытывался на 2–10 ГСУ. Выделены высокомасличные генотипы: НПЦ ЗР 10909 (45,3% – Есильский ГСУ); НПЦ ЗР 11909 (45,8% – Зыряновский ГСУ);

Династи – 46,2% (Костанайский ГСУ); Калибр – 46,5% (Талдыкорганский ГСУ); SRMH-177 – 45,8% (Шортандинский ГСУ). Максимальное содержание масла формировалось в условиях Иртышского ГСУ (47,6–49,3%) при уровне урожайности 8,6–13,9 ц/га и сборе масла 4,18–6,84 ц/га. По сбору масла выделялся сорт НПЦ ЗР 11109 с максимальным уровнем сбора для 60% сортоопытов (ГСУ×год) рапса в урожаях 2009–2012 гг.



Дендрограмма сходства-различий сортов рапса по содержанию масла

Подсолнечник занимает промежуточное положение между соей и рапсом яровым по требованию к теплу и водопотреблению, а по объему производства (около 27 млн. т) занимает 5-е место в мире среди масличных культур (Лукомец, Бочарова, 2005). Анализ почвенно-климатических условий Казахстана и, прежде всего, распределения сумм эффективных температур показывает, что основной по площади посева масличной культурой должен быть подсолнечник с учетом требований научно обоснованных севооборотов.

Для обеспечения стабильного производства подсолнечника потребуется оптимизация посевной площади до требуемого уровня насыщения им севооборотов, что обуславливает и некоторое их снижение (см. табл. 1).

В Республике Казахстан допущены к использованию 32 гибрида французской (13), казахстанской (9), американской (6), украинской (2), голландской (1), швейцарской селекции (1) и 13 сортов российской (6), казахстанской (6) и французской (1) селекции. Содержание масла в семенах подсолнечника варьирует в широких пределах от 33,2% до 55,6% у генотипов: SNH-293 (Новопокровский ГСУ, ВКО), Солнечный 20 (Жалагашский ГСУ, КЗО), Скороспелый 40 (Павлодарский ГСУ) – в урожае 2008 года; от 38,7% до 49,1% – у генотипов: SK-2594, Сибирский 91 и SK-10194

(Зыряновский и Шиелыйский ГСУ) – в урожае 2009; от 37,6% до 51,0% – у генотипов: ПР 63 А-40, SK-10178, Ирсо, CSF-6215, Сибирский 91 (Илийский, Павлодарский, Зыряновский ГСУ) – в урожае 2010 г.; от 35,2% до 57,0% – с максимальным содержанием у генотипов: П 64 Г-46 (Илийский ГСУ), Брио (ТКУ ГСУ; ПР 63 А-62 (Зыряновский ГСУ), Казахстанский 1 (Казалинский, Жалагашский) – в урожае 2011 г.; от 22,5% до 53,5% – для генотипов: П-64 ЛЕ 25, Элвас, Казахстанский 52 и ПР 63 А 40 (ТКУ Шемонаихинский, Шортандинский и Илийский ГСУ соответственно) – в урожае 2012 г.

По сбору масла с гектара выделяются генотипы: Канди, Брио, Казахстанский 1, Франкосол (мах 12,1-16,3 ц/га) – в урожае 2008 г.; Канди, Казахстанский 1 и Юбилейный 40 – в урожае 2009 г. с максимальными значениями 16,4–12,8 ц/га; сорта: ЛГ 5635, Принтасол, Брио с максимальным значением масла (13,5–12,7 ц/га) в урожае 2010 г.; в урожае 2011 г. установлен самый высокий уровень сбора масла (34,7–3,37 ц/га), обусловленный высокой урожайностью (до 83 ц/га) в благоприятных условиях вегетации, который составил для сорта Скороспелый 87 34,7 ц/га масла (на Шемонаихинском ГСУ), для ПР 64 Г-46 – до 26,2 ц/га (на Илийском ГСУ); для ПР 63 А62 – до 13,9 ц/га (на Зыряновском ГСУ).

Масличные культуры существенно различаются по требованию к теплу, потреблению воды, реакции на фотопериод. Среди них основная в мировом производстве – соя (среднее содержание в семенах белка – 39%, масла – 21%) выделяется по требованию к теплу. Так, при выращивании сортов этой культуры, которая по продолжительности вегетации относится к группам 00-2 и приемлема для возделывания в регионах Казахстана, требуется сумма эффективных температур 2000–2600°C (Лукомец, Бочкарев, 2005). Соя обладает сильной реакцией на фотопериод, поэтому на каждый градус ее продвижения в широтном направлении необходимы адаптированные к конкретному фотопериоду сорта. Она очень требовательна к обеспечению водой. Оптимальная температура почвы для получения дружных всходов также несколько выше, чем у других масличных культур весеннего срока сева. Эти биологические особенности сои обусловили ее распространение на юге, юго-востоке РК с теплым климатом, достаточной влагообеспеченностью или наличием орошения. На долю сои приходится 57% мирового производства масличных культур, или свыше 200 млн. т.

Соя является не только источником белка, но и масла, содержание которого в семенах колеблется от 16 до 27% (Ажгалиев и др., 2012). В состав сырого масла входят триглицериды и липоидные вещества. Содержание масла в семени сортов сои в РК варьировало от 18,0% (Надежда) до 26% (Л-285, Л-286), а для сорта Риза составило 25,2% в урожае 2010 г. В урожае 2011 г. содержание масла варьировало в пределах от 16,2% (Анастасия) до 25,9% (Мавка, Аннушка), а для сортов Черемош, Хорол, Десна – составило 18,0%. Сорт Анастасия отличается наиболее низким стабильным содержанием масла практически во всех регионах испытания (16,2–22,9%), как и сорт Хорол (18,0–22,7%). Напротив, сорт Аннушка характеризуется как стабильно относительно высокомасличный почти во всех регионах (табл. 3). Сорт сои Алматы характеризуется наиболее высоким содержанием олеиновой кислоты (до 35%), а сорт Жалпаксай – высоким содержанием линолевой кислоты (47,5%) и витамина F (до 58,4%).

Продуктивность культуры складывается из урожайности и хозяйственно значимых показателей качества. При сравнении сортов ведущим критерием является урожайность зерна, которая зависит от сорта, региона возделывания, уровня агротехники. В целом за годы испытания (с 1999 по 2011 гг.) урожайность зерна варьировала от 2,4 до 52,5 ц/га (табл. 4).

В Казахстане перспективна также масличная культура сафлор, по морфологическим признакам относящаяся к ксероморфным видам. Вегетационный

период у сафлора короткий, он переносит заморозки до -5 , -6°C , выдерживает засоление, его высевают при невысокой температуре почвы. Семена этой культуры по крупности близки к подсолнечнику, масса 1000 семян – 40–50 г, масличность – 35–37%. Современные сорта сафлора относятся к высокоолеиновому типу: их масло – высококачественное, пищевое. По биологическим особенностям культура приспособлена к выращиванию в зонах с дефицитом осадков.

Таблица 3. Диапазон изменчивости содержания масла в семенах сортов сои в зависимости от условий региона репродукции (ГСХ МСХ РК)

Сорта сои	Содержание масла, %			Доля генотипов с содержанием масла, %		
	Минимум	Максимум	Среднее	≤ 18	≥ 24	≥ 25
Алматы	18,8	21,1	20,0	–	–	–
Атланта	20,8	23,5	21,8	–	–	–
Анастасия	16,2	22,9	20,4	10	–	–
Аннушка	21,6	25,4	23,4	–	30	10
Биявка	20,3	24,6	22,4	–	10	–
Болашак	18,2	25,0	21,1	–	11	11
Босса	21,3	24,5	22,9	–	50	–
Букурия	20,9	22,1	21,5	–	–	–
Вилана	20,1	22,4	21,3	–	–	–
Вита	19,8	19,8	19,8	–	–	–
Галлек	21,1	24,5	22,4	–	33	–
Десна	18,0	24,0	21,3	17	17	–
Жалпаксай	21,1	23,3	22,1	–	–	–
Жансая	18,5	25,0	21,7	–	25	25
Искра	20,5	25,3	22,1	–	–	25
Казахстанская 2309	20,8	23,8	22,5	–	–	–
Корсак	19,8	24,4	21,7	–	20	–
Кубань	20,4	25,0	22,6	–	40	20
Ласточка	18,9	24,5	21,0	–	17	–
Лыбидь	20,8	24,7	22,3	–	20	–
Мавка	21,6	25,9	23,3	–	25	25
Мисула	19,2	24,0	17,0	–	33	–
Надежда	18,9	18,9	18,9	–	–	–
Ника	25,6	25,6	25,6	–	100	100
Опалина	21,5	24,1	22,4	–	33	–
Парадис	18,6	23,4	21,3	–	–	–
Перизат	21,0	21,5	21,3	–	–	–
Радость	23,5	23,5	23,5	–	–	–
Рента	–	–	–	–	–	–
Риза	24,1	25,1	24,7	–	100	50
Ружица	20,2	22,0	21,1	–	–	–
Селекта 201	22,1	23,2	22,7	–	–	–
Селекта 302	22,1	23,8	23,1	–	–	–
Танаис	18,2	22,7	20,6	–	–	–
Терек	19,9	24,8	22,1	–	33	–
Хорол	18,0	22,7	20,3	20	–	–
Черемош	18,0	24,0	20,9	17	17	–
Эврика	19,3	21,7	20,4	–	–	–

Сафлоровое масло содержит 76–82% линолевой кислоты, это самый высокий показатель среди производимых в республике растительных масел. Масличность этих семян на абсолютно сухое вещество составляет 36%, на ядро – 52,7%. Содержание линолевой кислоты в сортах сафлора Казахстана колеблется от 67,5% (Акмай) до 73,9% (Нурлан), соотношение «ненасыщенные/насыщенные жирные кислоты» варьирует от 5,79 (Аккызыл и Акмай) до 7,69 (сорт Нурлан). При этом содержание эруковой кислоты минимально для сорта Акмай (0,04%), максимально – для сорта Аккызыл (0,27%).

Таблица 4. Изменчивость потенциальной (max) продуктивности сои по репродукциям

ГСУ	Урожайность, ц/га (1999–2011 г.)			Сбор белка, ц/га (1999–2011 г.)			Сбор масла, ц/га (2011 г.)		
	min	max	сред.	min	max	сред.	min	max	сред.
Панфиловский/ Талдыкорганский	23,6	44,6	28,7	8,2	14,7	10,6	5,99	8,68	6,81
Енбекшиказахский	25,1	52,5	37,0	9,4	20,4	13,9	3,67	11,1	7,62
Саркандский	6,6	22,9	14,8	2,2	8,2	4,6	1,92	4,99	3,19
Жамбылский	9,6	15,7	12,2	3,2	5,1	3,7	1,82	2,62	2,18
Жанакорганский	11,6	19,7	16,4	3,0	5,6	4,3	3,76	4,93	4,35
Казалинский	4,5	11,0	8,9	1,4	4,0	2,9	1,61	2,44	1,94
Сайрамский	15,1	22,4	19,6	5,7	8,9	7,8	3,20	3,70	3,45
Курчумский	10,5	20,9	15,4	3,0	6,1	5,1	1,87	3,47	2,74
Алгинский*	6,5	9,0	7,2	2,4	3,4	2,8	1,23	1,83	1,46
Мартукский	7,7	7,9	7,8	2,6	2,8	2,7	1,68	1,76	1,72

* – данные 2011 г.

В РК районировано 6 сортов сафлора преимущественно местной селекции (Красноводопадская ГСС, Конырбеков). Содержание масла в сортоопытах 2004–2011 гг. варьировало от 20,9 до 35,2% в зависимости от условий года и места выращивания. При этом сбор масла достигал уровня 4,69 ц/га (для сортов Ииркас и Центр 70).

Таблица 5. Содержание масла в семенах сортов сафлора районированных в Казахстане, %

Сорт	min	max	ср.
Акмай	22,4	34,2	28,7
Молдыр	26,0	35,2	30,9
Ииркас	25,0	32,2	28,4
Милютинский 114	29,2	30,0	29,7
Аккызыл	24,9	32,9	29,7
Нурлан	20,9	32,0	28,6
Онтустик	30,7	33,5	31,7
Центр 70	23,7	31,9	29,4

Определенное значение в увеличении производства растительного масла может иметь горчица сарептская, устойчивая к засухе, площади посева которой (преобладает сорт Неосыпающаяся 2) увеличились с 1,2 тыс. га в 2009 г. до 21,2 тыс. га в 2012 г. Масло современных сортов горчицы не содержит вредной эруковой кислоты и может без ограничения употребляться в пищу. В Республике Казахстан районирован сорт горчицы сарептской Жамиля (2011).

Лен масличный дает техническое масло. По биологическим особенностям его можно широко возделывать в республике. В начальные годы реформ площади посева льна снизились до 2,4 тыс. га, с 2009 г. начали постепенно увеличиваться и в 2012 г. они составили более 330 тыс. га (см. табл.1). Причем возрождение производства этой культуры наблюдается в традиционных районах Северного Казахстана, Акмолинской и Костанайской областей (177,7, 80,4 и 64,5 тыс. га соответственно). Основные сорта льна в Казахстане – Северный и Кустанайский янтарь с содержанием масла до 43,8% (ВКО) в горных регионах. Увеличение площадей возделывания льна основано на использовании 7 районированных и перспективных сортов, в том числе 3 – отечественной, 3 – российской (сибирской) и 1 – румынской селекции. Содержание масла в семенах сорта Костанайский янтарь варьирует от 36,4 до 42,8% при уровне урожайности 14,3–16,0 ц/га, в то время как масличность румынского сорта Лирина достигает 45,3% при урожайности 12,3 ц/га.

Особенность рыжикового масла – высокое содержание ненасыщенной линоленовой кислоты (до 38%) и антиоксидантов – γ - и δ -токоферолов (до 70% от общего количества токоферолов).

Потенциал производства масличных культур можно увеличить путем повышения продуктивности посевов, так как прогнозируемая урожайность в нашей стране ниже, чем в мире. Природно-климатические условия позволяют увеличить потенциал производства масличных и за счет разнообразия культур (лен, кунжут, клещевина), обоснованного исследованиями КИЗа и ВИРа с 1938 г.

В Казахстане можно возделывать еще одну масличную культуру – клещевину, дающую ценное техническое касторовое масло. Она относится к субтропическим многолетним культурам и предъявляет высокие требования к теплу. Сумма эффективных температур для вызревания кистей первого и второго порядка составляет 2700–3500°C. Клещевина потребляет воды на формирование 1 ц семян больше, чем соя. Еще в 1916 г. А. И. Гольбеком был разработан план по посеву культуры клещевины в Туркестанском крае (Удольская, Колушева, 1970). По данным современных исследований, масличность клещевины достигает 41,4–46,4% (Нургасенов Т., неопубликованные данные).

Литература

- Савин В. Н., Абугалиев И. А., Абугалиева А. И. Оптимизация аналитических исследований в растениеводстве // Доклады РАСХН. 1998. № 2. С. 13–15.
- Долгих Л. А., Абугалиева А. И. Рапс и его идентификация согласно UPOV // Масличные культуры : Научно-технический бюллетень Всероссийского НИИ масличных культур им. Пустовойта. 2009. Вып.1. № 140. С. 127–133.
- Лукомец В. М., Бочкарев Н. И. Биопотенциал возделывания масличных культур в России // Доклады РАСХН. 2005. № 2. С. 7–10.
- Ажгалиев Т.Б., Абугалиева А.И., Жумаханова А.Ж. Сортовой генофонд сои в Казахстане // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. 2012. № 10. С. 17–23.
- Удольская Н.Л., Колушева Н.В. Селекционер А. К. Гольбек. Алма-Ата, 1970. 28 с.
- Кузьмич И.Ф. Селекция и семеноводство масличных культур // Научный отчет Алмаатинской Госселекционной станции за 1941–1942 гг. М.: Сельхозгиз, 1945. С. 80–92.

РАЗВИТИЕ ИДЕЙ Н. И. ВАВИЛОВА В ИЗУЧЕНИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЕНОРЕСУРСОВ ОВОЩНЫХ И БАХЧЕВЫХ КУЛЬТУР

В. И. Буренин, Т. М. Пискунова

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: v.burenin@vir.nw.ru

Резюме

Описано генетическое разнообразие геноресурсов овощных и бахчевых культур, основные направления его изучения и использования, включая современные аспекты исследований. Обобщены результаты исследований по межвидовой гибридизации разных видов. Показаны особенности селекции на гетерозис овощных культур с использованием явлений самонесовместимости, стерильности пыльцы и полиплоидии. Приведены результаты практического использования геноресурсов овощных и бахчевых культур ведущими селекционными учреждениями страны.

Ключевые слова: овощные культуры, коллекция, селекция, исходный материал, устойчивость к болезням, сорт, гибрид.

DEVELOPMENT OF IDEAS OF N. I. VAVILOV CONCERNING EVALUATION AND USE OF GENETIC RESOURCES OF VEGETABLE AND CUCURBIT CROPS

V. I. Burenin, T. M. Piskunova

Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: v.burenin@vir.nw.ru

Summary

The diversity of vegetable and cucurbit crop genetic resources, the main directions of their study and use, including modern aspects of research, are described. The results of research on interspecific hybridization of different species are summarized. Specificity of breeding vegetable crops for heterosis by using the phenomena of self-incompatibility, pollen sterility and polyploidy is demonstrated. The results of practical use of vegetable and cucurbit crop genetic resources by the leading breeding centers of the country are presented.

Key words: vegetable crops, collection, breeding, initial material, resistance to diseases, variety, hybrid.

Н. И. Вавилов (1926) неоднократно указывал на безусловную значимость для селекции огромных видовых и сортовых ресурсов растений. «В пределах каждого вида, – писал Н. И. Вавилов (1925), – существует обычно большое разнообразие эколого-географических форм, выделение которых и составляет, прежде всего, основу селекции растений». Основными направлениями изучения мировых растительных ресурсов он считал: разработку систематики, классификации, эволюции и географии культурных растений; общей и частной генетики, разработку теоретических основ иммунитета.

Широкое комплексное изучение коллекций овощных культур, представленных культурными и дикорастущими видами, позволило уточнить центры происхождения и формообразования (томат, капуста, морковь, свекла, редька, огурец, арбуз), разработать и усовершенствовать ботанические и эколого-географические классификации, предложить оригинальные гипотезы эволюции. В процессе изучения коллекций свеклы, моркови, капусты, арбуза и других растений накоплены новые данные, подтверждающие и иллюстрирующие закон гомологических рядов в наследственной

изменчивости (Брежнев, 1955; Красочкин, 1971; Сечкарев, 1971; Буренин, 1983; Лизгунова, 1984; Сазонова, Власова, 1990; Фурса, 1986).

Одной из актуальных проблем вида в современной ботанике и генетике является раскрытие его генетического потенциала для селекции, позволяющее наметить пути поиска и эффективного использования в селекции генетических источников улучшения сельскохозяйственных растений. Ценность определенного коллекционного образца устанавливают по результатам комплексного изучения, включая биохимические, физиологические, иммунологические и генетические признаки. При этом учитывается степень изученности конкретных овощных растений (табл. 1).

Таблица 1. Уровень генетической изученности овощных и бахчевых растений

Культура	Число установленных генов по:										Всего
	типу развития растений	изменениям в генеративной сфере	окраске листа	форме листа	окраске плода, семян	форме плода, корнеплода	окраске цветка	опушению	химическому составу и вкусу плодов	устойчивости к болезням	
Томат	74	31	90	36	18	11	5	7	16	13	301
Огурец	19	29	15	14	13	24	2	3	2	18	139
Салат	9	9	22	10	2	3	–	1	–	6	62
Дыня	3	7	6	1	1	7	2	–	1	11	39
Свекла	3	4	9	4	5	4	–	–	3	1	33
Арбуз	2	5	1	1	13	2	–	–	1	2	28
Редис	1	26	3	5	3	2	2	–	5	–	26
Лук репчатый	1	2	5	–	7	–	–	–	–	5	20
Итого	112	92	151	71	62	53	11	11	28	56	648

Наиболее изученными в генетическом отношении являются томат и огурец. По данным культурам установлено наибольшее число генов по таким важным признакам, как тип развития и изменения в генеративной сфере. По ряду признаков установлен характер наследования, определены гены, ответственные за их проявления, составлены карты хромосом.

В настоящее время генетическая коллекция рода *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. в ВИРе насчитывает 502 образца со 123 идентифицированными генами. Это: мутантные формы, линии томата, полиплоиды, анеуплоиды из различных стран мира, а также селекционных центров (Храпалова, 2007).

В пределах вида *Cucumis sativa* L. описано 166 генов, в том числе: в генеративной сфере – 5, по габитусу растений – 10, листу – 4, плоду – 12, устойчивости к болезням – 6 (Кожанова, 2007).

У капусты огородной (*Brassica oleracea* L.) наибольшее число генов описано по биохимическому составу – 44, по устойчивости к болезням – 11, по признакам генеративной сферы – 75, в том числе самонесовместимости – 17 и стерильности – 14 (Артемьева, 2007).

У свеклы включены в генетическую коллекцию образцы по следующим признакам: окраска гипокотили и корнеплода – 14, окраска розетки листьев – 6, карликовая розетка листьев – 2, форма корнеплода – 19, раздельноплодность – 60, устойчивость к цветущности – 6, ЦМС – 17, самофертильность – 7, устойчивость к курчавости листьев – 2, полиплоидия – 42 образца.

Список генов салата включает 67, из них устойчивость к болезням – 6, мужская стерильность – 3, тип развития – 7 (Шашилова, 2007).

У тыквы определен генетический контроль следующих морфологических признаков: плода – 25 генов, листа – 12, цветка – 7, семян – 1, стебля – 2, габитуса растения – 2. Для биологических признаков описаны гены: выраженность пола – 2, мужская стерильность – 5, устойчивость к болезням – 19, а также содержание кукурбитацина – 2, изоферментов – 48 генов.

В настоящее время описаны 162 гена дыни, контролирующих различные признаки, в том числе: генеративной сферы – 14, биохимических признаков – 21, устойчивости к болезням – 43, устойчивости к вредителям – 5 (Гашкова, 2007).

Актуальной проблемой в селекции была и остается устойчивость к болезням и вредителям. Н. И. Вавилов (1964) всегда подчинял общую проблему иммунитета задачам селекции. Им были сформулированы ряд законов иммунитета, которые определили, в сущности, и концепцию сопряженной эволюции растения-хозяина и паразита. Примером может служить устойчивость к церкоспорозу видов секции *Beta*, в частности, *B. maritima* L. Известно, что вид *B. maritima* L. распространен в тех регионах, где широко распространен возбудитель церкоспороза; отсюда наблюдается постоянная изменчивость растения-хозяина и непрекращающееся давление патогена (Буренин, 1983, 1999).

Большую известность и распространение получили: разовое использование генов устойчивости, мультилинейная селекция, использование сортов с разными генами, толерантность. Вместе с тем, современные сорта интенсивного типа большинства овощных культур бедны факторами устойчивости, так как они создавались на базе малого числа генов. Поэтому они, как правило, не могут служить донорами для селекции на иммунитет (Кривченко, 1987). В связи с этим, требуется постоянный приток доноров и источников устойчивости растений к болезням. Огромными запасами генов устойчивости обладают дикорастущие виды и сородичи культурных растений. Поэтому самый перспективный путь – интрогрессия генов от дикорастущих и примитивных видов в основу культурных сортов, а также перенос определенных геномов в генотип культурных видов.

С использованием различных геномов значительные успехи в селекции достигнуты по культуре томата. Так, был использован в качестве источника ценных генов устойчивости к вредителям и болезням вид *L. peruvianum* Mill. – устойчивость к альтернарии, кладоспориозу, фузариозу, белой пятнистости листьев, бактериальному увяданию, ВТМ, вирусу бронзовости томата, вирусу курчавости, корневым нематодам (Бочарникова, 2001).

Иммунологические исследования показали, что устойчивым к киле и черной ножке капусты является вид *B. nigra*, а донорами устойчивости к киле – селекционные линии белокочанной капусты Oregon 100, полученные из США. Донор устойчивости к сосудистому бактериозу – сорт Brunswick pie corto из Аргентины. Высокую устойчивость к пероноспорозу проявили образцы листовой капусты из Португалии Conve Algarvia, Conve galega, Conve Gloria de Portugal (Артемьева, 1997).

Большинство современных кочанных хрустящелистных сортов салата создано с использованием дикорастущего вида *L. virosa*, который является источником устойчивости к таким болезням, как вирусная желтуха, ложная мучнистая роса, антракноз (Шашилова, 1999). Установлено значительное разнообразие мировой коллекции *Lactuca* по локусам Dm 3 и Dm 4, контролирующим устойчивость к *Bremia lactucae*. Результаты молекулярного скрининга могут быть использованы для решения актуальных проблем работы с генетическими ресурсами салата, включая оценку исходного материала, идентификацию образцов, подбор пар для скрещиваний и другие (Анисимова и др., 2011).

Во ВНИИССОК для установления гибридности растений и уровня интрогрессии при скрещиваемости видов лука, включая устойчивость к болезням, использован

эффективный метод RAPD, основанный на выявлении полиморфизма ДНК разных генотипов, в том числе межвидовых гибридов (Титова, Ершов, 1999).

Одно из центральных мест в селекции овощных и бахчевых культур занимает проблема адаптации. Недостаточная устойчивость к экстремальным абиотическим (засухе, пониженным температурам и дефициту влаги) и биотическим (болезням и вредителям) факторам среды приводит к существенному недобору урожаев, снижению качества продукции. Назрела необходимость разработки адаптивной селекционной системы, где за основу берется не только рост потенциальной продуктивности сортов и гибридов, но и их стабильное противостояние стрессовому действию негативных факторов (Жученко, 1995).

В решении этих важных и сложных задач большая роль принадлежит использованию в качестве исходного материала огромного генетического потенциала, сосредоточенного в коллекциях овощных и бахчевых культур ВИР. Характеризуя селекцию как науку, Н. И. Вавилов (1934, 1935) не случайно на первое место ставил учение об исходном материале, видовом и родовом потенциале, т. е. ботанико-географические исследования. «Селекция ближайшего будущего, – писал Николай Иванович, – должна включать синтезированные знания, вскрывающие сортовую амплитуду видов, систему видов, крайние варианты, амплитуду физиологических, химических и иных свойств».

В этом плане, как никогда, перспективным является эколого-географическое изучение генетических ресурсов, у истоков которого стоял Н. И. Вавилов (1965). В последние годы исследования в этом направлении по овощным культурам были возобновлены. Так, из 49 образцов капусты белокочанной 9 превышали в течение трех лет стандарт по урожайности одновременно в четырех пунктах; при этом они характеризовались скороспелостью. Проявившие высокую урожайность в разных регионах образцы перца сладкого отличались засухоустойчивостью; плоды были средней величины с повышенным содержанием аскорбиновой кислоты. Стабильные по урожайности в разных зонах образцы свеклы столовой имели высокую продуктивность единицы листовой поверхности, были сравнительно устойчивы к церкоспорозу. В результате эколого-географического изучения коллекции овощных культур выделены образцы для селекционного и производственного использования.

Межвидовые скрещивания позволяют судить о геномном составе разных видов, о степени их родства и происхождении. Так, например, в роде *Beta* L. имеются 3 группы: 1 – скрещивание видов проходит легко, фертильность гибридов высокая и они дают плодовитое потомство, что свидетельствует о близости этих видов и наличии у них общего генома; скрещивание видов 2-й группы проходит с трудом, а виды 3-й группы практически не скрещиваются, что свидетельствует о значительных различиях у них по геномному составу (Буренин, 1983).

Для уточнения филогенетических взаимоотношений внутри рода *Brassica rapa* L. использованы мобильные генетические элементы САСТА (Артемьева, 2008).

Межвидовая гибридизация сыграла значительную роль в эволюции культурных растений, среди которых преобладают полиплоидные виды и формы. Барьер межвидовой и межродовой несовместимости и стерильность F1 преодолеваются удвоением числа хромосом, применением методов прививок и т. д.

Созданы новые формы культурных растений: кормовые – тифон (аллоплоидный гибрид турнепса и пекинской капусты), перко (гибрид озимого рапса с пекинской капустой), *Raphanobrassica* и *Brassicoraphanus* (редечно- или редисно-капустный гибрид). Скрещиванием листовой капусты с турнепсом, листовой капусты с брюквой, кольраби с турнепсом и последующим удвоением числа хромосом и отбором получена тетраплоидная синтетическая брюква, $2n=38$ (Артемьева, 1997).

В современной селекции овощных культур важное место принадлежит использованию гетерозиса (Боос др., 1990). При получении гибридных семян, в

основном, применяют сорто- и межлинейные скрещивания, в том числе с использованием форм с сигнальными признаками, гибридизацию самонесовместимых инбредных линий, биотипов с пыльцевой стерильностью. В настоящее время в ряде стран (Япония, США, Нидерланды) 90–100% семян капусты, свеклы, моркови, лука, огурца составляют гибридные. В коллекции ВИР имеются самонесовместимые гибридные линии белокочанной капусты, выделенные в ТСХА из сортов Золотой гектар, Номер первый Грибовский 147 и Дин-зо-сн (Китай), обладающие высокой комбинационной способностью по скороспелости и продуктивности (Артемьева, 1985). А. В. Крючков (1977, 1990) предложил модификацию схемы выведения четырехлинейных гибридов, согласно которой созданы и районированы в России гибриды F1 Трансфер, Малахит, Крюмон, Колобок, Альбатрос и др. Эффект гетерозиса определяется, в основном, различиями между родительскими линиями по общей комбинационной способности. Максимальный же гетерозис наблюдался при сочетании высоких ОКС и СКС родительских линий (Монахос, Бочкарев, 1994).

Н. И. Тиминим (1999) установлено, что оценка эффектов ОКС и СКС линий моркови от диаллельных скрещиваний мужски стерильных и фертильных линий позволила выделить линии с высокой комбинационной способностью; получены линии №№ 1124-1, 1132-2 и 1171-2, сохраняющие высокую ОКС в течение многих поколений. На основе инбридинга фертильных и аутбридинга стерильных и фертильных растений из популяции сортов Нантская 4 и Московская зимняя А-515 создана генетическая коллекция.

В исследованиях Д. В. Соколовой (2011) впервые показано, что частота появления раздельноплодных растений столовой свеклы может быть повышена в результате гибридизации раздельноплодных линий между собой, а также обработкой их семян 5-азатицидином.

В гетерозисной селекции бахчевых культур большую ценность представляют мутанты с мужской стерильностью. Получена линия с геном ms-2, на основе которой создан первый в России гибрид арбуза ВНИИОБ-2. В ультраскороспелом образце из коллекции ВИР (вр.к-632, Кемеровская обл.) обнаружена форма с ограниченным развитием боковых побегов, которая использована в создании сортов серии СРД, в том числе, широкораспространенного сорта Огонек (Дютин, 1999). По данным Т. Б. Фурсы (1997), в коллекции выявлены формы арбуза, являющиеся донорами хозяйственно-ценных признаков, в частности, устойчивости к болезням и качества плода. Донорские свойства проверены на сортах, полученных с участием сорта Fairfax (к-4244, США), Таврический (к-4670), Восход (к-4311) и Синчевский (к-5093).

Н. И. Вавилов большое внимание уделял «Проблеме новых культур» (1978), а также задачам, стоящим перед исследователями по использованию дикой флоры для введения в культуру новых ценных растений. В полной мере это относится и к овощным растениям. В настоящее время население земного шара использует более 1000 видов растений, принадлежащих к 78 ботаническим семействам. Однако, наиболее широкое распространение получили 690 видов 9 семейств – лилейные, зонтичные, бобовые, сложноцветные, пасленовые, губоцветные, тыквенные, гречишные. На территории нашей страны возделывают 44 овощные культуры, но широкое распространение имеют только 23, относящиеся к 7 ботаническим семействам.

Коллекция ВИР в настоящее время насчитывает свыше 50 тыс. коллекционных образцов, относящихся к 475 видам и 145 родам (табл. 2). Указанные образцы на данном этапе используются неполностью. Из 262 видов, представляющих интерес для селекционной практики, используются 142 или 55% от общего числа. Резерв для использования в селекции (овощное, пряно-вкусовое, эфирно-масличное, лекарственное, декоративное, кормовое направления) составляют свыше 100 видов.

С использованием образцов коллекции овощных и бахчевых культур выведено в разные годы свыше 1000 сортов, районированных в основных овощеводческих зонах страны (Боос, 1987). В последние годы с участием селекционно-семеноводческих фирм выведено и включено в Госреестр селекционных достижений свыше 100 новых сортов и гибридов, в том числе: капусты – 8, моркови – 3, огурца – 3, редиса – 4, кабачка – 2, тыквы – 2, свеклы – 2, малораспространенных овощных культур – 11.

Таблица 2. Ботанический состав коллекции овощных и бахчевых культур

Семейство	Число		Количество образцов	
	родов	видов	в постоянном каталоге	во временном каталоге
<i>Alliaceae</i>	17	66	2031	658
<i>Amaranteaceae</i>	2	44	181	451
<i>Apiaceae</i>	17	24	2601	2967
<i>Asparagaceae</i>	1	6	47	59
<i>Asteraceae</i>	21	35	1132	998
<i>Basellaceae</i>	1	2	7	7
<i>Brassicaceae</i>	11	39	3868	3062
<i>Campanulaceae</i>	1	1	–	1
<i>Cannabiaceae</i>	1	1	–	2
<i>Cariohyllaceae</i>	1	2	–	3
<i>Chenopodiaceae</i>	5	18	2043	1608
<i>Cucurbitaceae</i>	14	43	10084	5340
<i>Euphorbiaceae</i>	1	1	1	–
<i>Fabaceae</i>	1	2	36	2
<i>Ficoidaceae</i>	1	1	–	1
<i>Laninaceae</i>	30	94	346	338
<i>Malvaceae</i>	1	2	300	109
<i>Plantaginaceae</i>	1	1	–	1
<i>Polygonaceae</i>	3	48	164	235
<i>Portulacaceae</i>	9	8	37	16
<i>Ranunculaceae</i>	1	8	61	18
<i>Rosaceae</i>	1	1	2	1
<i>Rutaceae</i>	1	4	1	12
<i>Solanaceae</i>	6	21	5493	4892
<i>Tiliaceae</i>	1	1	4	–
<i>Valerianaceae</i>	1	2	8	4

Вместе с тем, в Госреестре, наряду с современным сортиментом, присутствуют стародавние сорта селекции ВИР. По овощным культурам это: капуста белокочанная Золотой гектар 1432 (год районирования 1943), капуста цветная Отечественная (1953 г.), огурец Авангард (1953 г.), перец острый Астраханский 143 (1943 г.), редисы Вировский белый (1956 г.) и Красный великан (1958 г.), томаты Новато (1943 г.) и Волгоградский 5/95 (1953 г.). Они обладают высоким адаптивным потенциалом и наиболее приспособлены к условиям возделывания. Перечисленные сорта – сорта широкого ареала – являются золотым фондом для последующих селекционных изысканий. Привлечение их в гибридизацию способствует повышению стабильности урожаев по годам, а также общего потенциала продуктивности. Для овощных культур данное

направление селекции наиболее важно, так как проблема «максимальный урожай» или адаптация для них стоит очень остро.

Изложенное выше свидетельствует о том, что идеи и дела великого ученого современности – Н. И. Вавилова – получили практическое подтверждение. Несомненно, что дальнейшее пополнение и углубленное изучение коллекции будет способствовать эффективному ее использованию в сельском хозяйстве.

Литература

- Анисимова И. Н., Шашилова Л. И., Авалкина И. А. Молекулярный скрининг коллекции салата (*Lactuca L.*) на присутствие генов Dm 3 и Dm 4, контролирующих устойчивость к *Bremia lactucae* // Труды по прикл. бот., ген. и сел. СПб.: ВИР, 2011. Т.168. С. 124–133.
- Артемяева А. М. Проявление гетерозиса у межлинейных гибридов капусты: Автореф. дис...канд. с.-х. наук. Л., 1985. 17 с.
- Артемяева А. М. Капуста // Генетические коллекции овощных растений. СПб.: ВИР, 1997. С.7–54.
- Артемяева А. М. Капуста // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 24–35.
- Боос Г. В. Актуальные аспекты селекции овощных и бахчевых культур // Сб. научн. тр. по прикл. бот., ген. и сел. Л.:ВИР, 1987. Т. 100. С. 114–120.
- Боос Г. В., Бадина Г. В., Буренин В. И. Гетерозис овощных культур. Л., 1990. 222 с.
- Бочарникова Н.И. Дикорастущие виды рода *Lycopersicon Tourm.* // Генетические коллекции овощных культур. СПб., 2001. С. 94–104.
- Брежнев Д. Д. Томаты. М.–Л., 1955. 350 с.
- Буренин В. И. Свекла – Beta L. Дис. ... д-ра с.-х. наук. Л., 1983. 323 с.
- Вавилов Н. И. Селекция как наука. М.–Л.: Сельхозгиз, 1934. 16 с.
- Вавилов Н. И. Селекция как наука // Теоретические основы селекции растений. М.–Л.: Сельхозгиз, 1935. Т. 1. С. 1–17.
- Вавилов Н. И. Проблемы иммунитета культурных растений // Избранные труды. М.–Л.: Наука, 1964. Т. 4. 518 с.
- Вавилов Н. И. Центры происхождения культурных растений // Избранные труды. М.–Л.: Наука, 1965. Т. 5. С. 9–107.
- Вавилов Н. И. Географическая изменчивость растений // Избранные труды. М.–Л.: Наука, 1965. Т. 5. С. 120–126.
- Вавилов Н. И. Проблемы новых культур. М., 1978. С. 234–260.
- Гашкова И. В. Дыня // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 65–69.
- Дютин К. Е. Спонтанная мутация как источник селекционно-ценных признаков бахчевых культур // Генетические коллекции овощных культур. СПб.: ВИР, 1999. С. 91–98.
- Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений. Кишинев, Нистру, 1988. 729 с.
- Жученко А. А. Проблемы адаптации в селекции, сортоиспытании и семеноводстве с.-х. культур // Генетические основы селекции растений. М., 1995. С. 3-9.
- Кожанова Т. Н. // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 18–23.
- Красочкин В. Т. Свекла // Культурная флора СССР. Л., 1971. Т. 19. С. 7-266.
- Кривченко В. И. Законы Н.И. Вавилова о естественном иммунитете растений к болезням и проблемы селекции // Труды по прикл. бот., ген. и сел. Л.: ВИР, 1987. Т. 100. С. 20–29.
- Крючков А. В. Схема выведения четырехлинейных гибридов капусты на основе самонесовместимости // Известия ТСХА. М., 1977. Вып. 1. С. 124–131.
- Крючков А. В. Селекция F₁ гибридов кочанной капусты на основе спорофитной самонесовместимости.: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 1990. 62 с.
- Лизгунова Т. В. Капуста // Культурная флора СССР. 1984. Т.11. 328 с.
- Монахос Г. Ф., Бочкарев С. В. Комбинационная способность самонесовместимых инбредных линий брюссельской капусты по продуктивности // Известия ТСХА. 1994. № 1. С. 43–49.

- Пискунова Т. М.* Тыква // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 54–64.
- Сазонова Л. В., Власова Э. А.* Корнеплодные растения. Л.: Агропромиздат, 1990. 296 с.
- Сечкарев Б. И.* Корнеплодные растения // Культурная флора СССР. 1971. Т. 19. С. 267–301.
- Соколова Д. В.* Создание и оценка самоопыленных линий раздельноплодной столовой свеклы: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. СПб., 2011. 22 с.
- Тимин Н.И.* Генетический потенциал вида *Lactuca sativa* L. // Генетические коллекции овощных культур. СПб.: ВИР, 1999. С. 31–51.
- Титова И. В., Еришов И. И.* Генетика лука репчатого // Генетические коллекции овощных культур. СПб.: ВИР, 1999. С. 52–69.
- Фурса Т. Б.* Адаптация сортов арбуза к экстремальным условиям // Сб. науч. тр. по прикл. бот., ген. и сел. Л.:ВИР, 1986. Т. 102. С. 47–52.
- Фурса Т. Б.* Арбуз // Генетические коллекции овощных культур. СПб.: ВИР, 1997. С. 72–77.
- Храпалова И. А.* Томат // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 7–17.
- Шашилова Л.И.* Генетика салата // Генетические коллекции овощных культур. СПб.: ВИР, 1999. С. 18–30.
- Шашилова Л.И.* Салат // Идентифицированный генофонд овощных растений. СПб.: ВИР, 2007. С. 46–53.

РАНГ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ДИЗАЙНА И АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ СИСТЕМ[§]

**Н. И. Воробьев¹, Н. А. Проворов¹, О. В. Свиридова¹, В. Н. Пищик²,
Н. В. Патыка¹, В. А. Думова¹, Ю. В. Круглов¹**

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Россельхозакадемии,

Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Nikolai_Vorobyov@yahoo.com

² Агрофизический научно-исследовательский институт Россельхозакадемии, Санкт-Петербург,
Россия

Резюме

Фрактальный анализ морфометрических данных немикробных компонентов и структуры сопутствующих микробных сообществ позволил сравнить ранги генетического дизайна и адаптационный потенциал растительно-микробных систем. Анализ показал, что сопутствующие микробные сообщества взаимодействуют с немикробными компонентами, усложняют конфигурацию своих биосетей и повышают адаптационный потенциал биосистем.

Ключевые слова: ранг генетического дизайна растительно-микробной системы, фрактальная размерность пространства морфометрических данных немикробных компонентов и микробных биосетей.

RANK OF GENETIC DESIGN AND ADAPTIVE POTENTIAL OF PLANT-MICROBIAL SYSTEMS

**N. I. Vorobyov¹, N. A. Provorov¹, O. V. Sviridova¹, V. N. Pishchik²,
N. V. Patyka¹, V. A. Dumova¹, Yu. V. Kruglov¹**

¹All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: Nikolai_Vorobyov@yahoo.com

²Agrophysical Research Institute RAAS, St. Petersburg RF

Summary

The fractal analysis of morphometric data on non-microbial components and structure of accompanying microbial communities made possible a comparison of genetic design ranks and adaptation potential of plant-microbial systems. An analysis has shown that accompanying microbial communities interact with non-microbial components, complicate bionetworks configuration and increase the adaptive potential of biosystems.

Key words: genetic design rank of plant-microbial system, fractal dimension of the space of morphometric data on non-microbial components and microbial bionetworks.

Введение

Эволюция растительно-микробных систем (РМС) всегда происходила в нестабильных экологических условиях. Эта нестабильность определила направление развития РМС на накопление адаптаций к разнообразным внешним ситуациям, на повышение интегрированности компонентов систем и стабильности их репродуктивных характеристик (Проворов, Воробьев, 2012). В результате было накоплено большое количество разнообразных адаптаций, обеспечивающих выживание

[§]Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00409-а.

МРС в широком диапазоне экологических условий. Кроме того, был осуществлен высококачественный генетический дизайн адапционных текстов (А-планов), управляющих экспрессией растительных и бактериальных генов на каждом жизненном цикле биосистем (Гусев, 2005; Demsky, 2008; Meyer, 2009). Очевидно, что процесс накопления А-планов имеет естественный предел, так как каждый А-план частично занимает генетическое пространство метагенома и хранит последовательность определенных адапционных действий биосистемы. Поэтому максимальное число, записанных в метагеноме А-планов, с одной стороны характеризует размер метагенома, а с другой – адапционный ранг генетического дизайна биосистем (РГД).

Наличие широкого спектра А-планов и неопределенность будущих экологических условий, в которых должны развиваться РМС, создает неразрешимую проблему выбора оптимального А-плана среди А-планов, записанных в метагеноме. Для решения этой проблемы в рамках эволюционного поиска был найден механизм групповой адаптации РМС «Отложенный выбор». В основу этого механизма положено распределение разных А-планов между несколькими экземплярами биосистем. Очевидно, чем шире спектр биосистем с различными А-планами, тем выше вероятность события, при котором хотя бы одна из этих биосистем окажется адаптированной к будущим экологическим условиям. Если все имеющиеся А-планы будут задействованы этим механизмом, то вероятность выживания одной биосистемы будет максимальна и возможно достаточна для продолжения последующих реализаций.

В каждой РМС собственный А-план жестко регулирует биохимические процессы и задает индивидуальные темпы развития компонентам биосистем на протяжении всего жизненного цикла. Это приводит к тому, что на соответствующих этапах развития биосистем будет наблюдаться разброс значений морфометрических признаков в группе растений (например, по высоте и массе растений). Кроме этого, будет наблюдаться группировка морфометрических данных вблизи центров кластеризации, число которых совпадает с числом активизированных А-планов. Кластеризация данных может быть обнаружена в неравномерном характере распределения плотности вероятности значений измеряемого признака, так как в областях кластеризации плотность вероятности повышается, образуя локальные максимумы. Таким образом, однозначное соответствие между числом активизированных А-планов, числом центров кластеризации данных в морфометрическом пространстве растений и числом локальных максимумов у функции распределения плотности вероятности морфометрических данных позволяет по числу локальных максимумов оценивать РГД биосистем (Воробьев, 2012).

Микробные компоненты МРС в зависимости от характера активизированного А-плана формируют разные по структуре и сложности биосети, предназначенные для трансформации исходных субстратов в нужные формы веществ (Воробьев, 2011). Современные молекулярно-генетические методы (Higuchi, 1993; Liu, 1997; Schütte, 2008) позволяют с большим разрешением определять в ризосфере растений частоты встречаемости множества микроорганизмов, включая некультивируемые формы. Биосети образуются соединением элементарных групп (фрактальных микробных триплетов), состоящих из трех разных по генотипу микроорганизмов и выполняющих одно биохимическое преобразование. Фрактальный триплет отличается тем, что частоты встречаемости микроорганизмов в нем связаны между собой фрактальным соотношением. Объясняется это тем, что биохимическая деструкция полимерных молекул обусловлена фрактальным законом конформации ферментов и фрактальной динамикой биохимических реакций (Новиков, Козлов, 2000а, 2000б; Долгоносков, 2007). Поэтому для эффективного выполнения молекулярных реакций и соединения (или разрыва) фрактально структурированных связей в полимерных молекулах необходимы ферменты и продуцирующие их микроорганизмы в количествах, подчиняющихся фрактальному закону – рекурсивному соотношению Фибоначчи (Воробьев, 1969;

Богатых, 2012). Чем больше число фрактальных триплетов (число ячеек биосети), тем сложнее биохимические преобразования осуществляются микроорганизмами и тем выше РГД данной биосети. Таким образом, по количеству фрактальных триплетов в биосети можно оценивать ее РГД.

Целью данного исследования является оценка и сравнение по адаптационному потенциалу и по РГД различных биосистем, используя значения морфологических признаков немикробных компонентов и данные о структуре биосетей микробного компонента биосистем.

Материалы и методы

Для определения РГД растительных и животных компонентов биосистем были использованы данные, опубликованные в учебниках по биометрии (Доспехов, 1973; Глотов, 1982; Лакин, 1990). Ростовые данные яровой пшеницы и ячменя были получены соответственно в полевом опыте АФИ Россельхозакадемии в 2011 г. и в вегетационном опыте ВНИИСХМ Россельхозакадемии в 2012 г.

Кластеризация морфометрических признаков биосистемных компонентов исследовалась с помощью графика кусочно-линейной функции, образованного отрезками, соединяющими значения преобразованных по следующим формулам экспериментальных данных:

$$D(Z_i) = \begin{cases} 0.3 & \text{если } (Z_{i+1} - Z_i) \cdot N \geq 0.3 \\ (Z_{i+1} - Z_i) \cdot N & \text{если } (Z_{i+1} - Z_i) \cdot N < 0.3 \end{cases}, \quad (1)$$

$$\text{где } Z_i = (X_i - X_{CP}) / \sqrt{\sum_{i=1}^N (X_i - X_{CP})^2}; \quad X_{CP} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N X_i; \quad X_1 \leq X_2 \leq X_3 \leq \dots \leq X_{N-1} \leq X_N$$

– ранжированный ряд нормированных значений измеренного признака; $N > 10000$ – число данных. Число центров кластеризации в морфометрическом пространстве признаков растений определяли по числу локальных минимумов на полученных графиках.

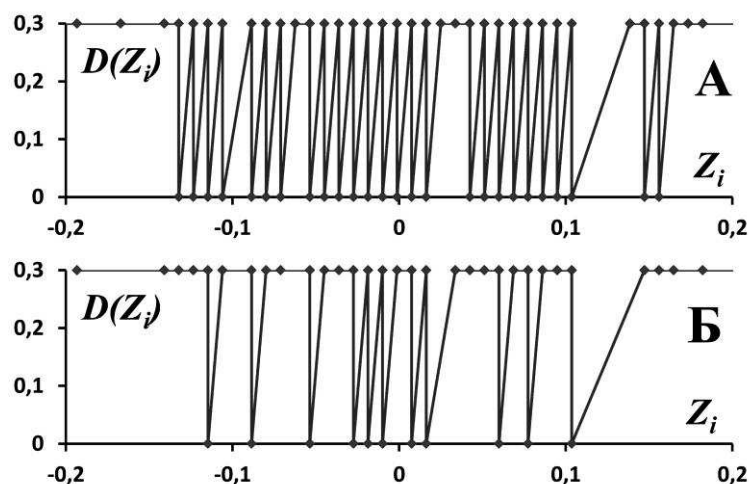
При небольших значениях N может наблюдаться зависимость количества выявленных центров кластеризации от размеров массива данных. Например, на рисунках А и Б представлены графики функции (1) для $N = 100$ и $N = 50$ значений ростового признака растений льна (Доспехов, 1973), содержащие соответственно 26 и 11 минимумов. Подобная зависимость количества центров кластеризации от размеров массива данных указывает на недостаточность этих данных и на невозможность определения величины РГД.

При недостаточном количестве экспериментальных данных (невозможности определения величины РГД) сравнение биосистем следует проводить по фрактальной размерности кластеризованного морфометрического пространства измеряемого признака, так как величина фрактальной размерности отражает густоту заполнения этого пространства центрами кластеризации. Для определения фрактальной размерности анализируемых данных применяется аппроксимация логарифмической формулой зависимости количества локальных минимумов функции (1) от размеров массива данных (Кроновер, 2000; Мандельброт, 2002; Шредер, 2005):

$$\ln(M_k) = C_p - f \cdot \ln(k), \quad (2)$$

где $k = 1, 2$ – фрактальная переменная, шаг выборки значений из ранжированного ряда этих значений (при $k = 1$ полный массив данных, при $k = 2$ половина данных, находящихся на нечетных позициях в ранжированном ряду); C_p, f – фрактальная

постоянная и искомая фрактальная размерность дискретного пространства данных; M_k – число выявленных минимумов функции (1) при выборке данных с шагом k .



Графики, демонстрирующие кластеризацию значений высоты растений льна (Доспехов, 1973):

А – использованы высоты 100 растений льна.

Б – использованы высоты 50 растений льна.

Для определения РГД микробных биосетей анализировались молекулярно-генетические данные, полученные Т-RFLP анализом ДНК микроорганизмов (Schütte, 2008), которые были выделены из образцов почв многолетнего опыта (РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2010 г.) и вегетационного опыта (ВНИИСХМ Россельхозакадемии, 2012 г.). Почвенные образцы отбирались из ризосферы ржи, клевера и ячменя. При этом выделялись триплеты микробных генотипов, частоты встречаемости которых связаны рекурсивными соотношениями Фибоначчи:

$$Bene^{-1}\left(1/\sqrt{p_1}\right) = Bene^{-1}\left(1/\sqrt{p_2}\right) + d = Bene^{-1}\left(1/\sqrt{p_3}\right) + 2 \cdot d + \sigma, \quad (3)$$

$$\text{где } \frac{1}{\sqrt{p_i}} = Bene(Z_i) = \left(\varphi^{Z_i} - \frac{\cos(\pi \cdot Z_i)}{\varphi^{Z_i}} \right) : \sqrt{5}, \quad \varphi = (1 + \sqrt{5})/2 - \text{формула Бинэ,}$$

описывающая фрактальный ряд чисел Фибоначчи (Н. Н. Воробьев, 1969); p_i – частота встречаемости i -го генотипа, вошедшего в состав фрактального триплета ($i = 1, 2, 3$); d – постоянный положительный коэффициент рекурсии; σ – погрешность измерения частотных данных генотипов микробных сообществ. Квадратный корень из p_i введен в (3), следуя правилам статистического анализа и сравнения частот встречаемости генотипов (Wier, 1996).

Так как количество выявленных фрактальных триплетов растет с ростом погрешности σ , РГД микробных биосетей достоверно определить не удастся. Поэтому предлагается сравнивать биосети по фрактальной размерности. Мы полагаем, чем сложнее структура биосети, тем больше ее фрактальная размерность и тем выше ранг генетического дизайна. Для определения фрактальной размерности биосетей применяется аппроксимация логарифмической формулой зависимости количества

фрактальных триплетов в микробном сообществе от погрешности измерения частот встречаемости микроорганизмов (σ_k):

$$\ln(T_k) = C_M + f \cdot \ln(\sigma_k / \sigma_1), \quad (4)$$

где $\sigma_k / \sigma_1 = 1, 2$ – аргумент фрактального соотношения; C_M, f – фрактальная постоянная и искомая фрактальная размерность биосети; T_k – число выявленных фрактальных триплетов при σ_k .

Результаты и обсуждение

Объемы анализируемых данных не позволяют определять ранг генетического дизайна компонентов биосистем. Поэтому в таблице приводятся результаты вычисления фрактальной размерности морфометрических данных немикробных компонентов и микробных биосетей. Полученные фрактальные размерности морфометрического пространства биологических объектов и микробных биосетей дают представление об их адаптационных потенциалах и роли ризосферных микробных сообществ в адаптации биосистем в целом.

Характеристики ранга генетического дизайна немикробных компонентов биосистем и биосетей ризосферных микробных сообществ

Биосис- темы	Источник данных	Объем выборки	Фрактальная размерность, f
Растения	Высота льна (Доспехов, 1973)	100	1,24
	Высота пшеницы*	104	0,62
	Высота ячменя (вар. 1)**	105	0,62
	Высота ячменя (вар. 2)**	124	0,55
Животные и человек	Масса коров (Лакин, 1990)	100	0,89
	Годовые удои коров (Лакин, 1990)	100	1,25
	Рост юношей-студентов (Готов, 1982)	245	0,45
Почвенные микробные сообщества	Ризосфера ржи без известкования почв***	67	0,55
	Ризосфера ржи с известкованием почв***	72	1,19
	Ризосфера клевера***	57	1,43
	Ризосфера ячменя (вар. 1)**	67	0,74
	Ризосфера ячменя (вар. 2)**	58	1,00

* Полевой опыт АФИ Россельхозакадемии 2011 года.

**Вегетационный опыт ВНИИСХМ Россельхозакадемии 2012 года.

Вариант 1 – в почве присутствует солома ячменя без инокуляции биопрепаратом. Вариант 2 – в почве присутствует солома ячменя, инокулированная микробиологическим биопрепаратом.

***Многолетний полевой опыт с неизменным севооборотом на территории РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева. Образцы почв взяты в 2010 году.

Растения льна обладают фрактальной размерностью ($f = 1,24$ по высоте) большей, чем у растений пшеницы ($f = 0,62$ по высоте) и ячменя ($f = 0,55 \dots 0,62$ по

высоте). Возможно, это объясняется тем, что лен более чувствителен к изменению экологических условий и ему требуется больше вариантов адаптаций для формирования полноценной семенной продукции, т. е. он оказывается менее адаптированным к нестабильным внешним условиям, чем пшеница и ячмень. Высокий уровень адаптации к внешним условиям обнаруживается, по понятным причинам, у юношей-студентов ($f = 0,45$ по росту) и животных ($f = 0,89$ по массе). Вместе с тем, адаптированные по массе животные оказываются слабо адаптированными к разнообразию кормовой базы, так как фрактальная размерность удоев оказывается повышенной ($f = 1,25$ по удоям). Это указывает на то, что в современном рационе коров появились компоненты, отсутствующие в период эволюционного развития животных.

Микробные биосети, образующиеся в ризосфере растений ржи, увеличивают свою сложность при известковании почв (с $f = 0,55$ до $f = 1,19$ биосетей). Это означает, что нормализация по pH почв создает благоприятные условия для функционирования многих микроорганизмов в составе биосетей. Комфортные условия для микроорганизмов создаются и в ризосфере клевера ($f = 1,43$ биосетей). Сравнивая фрактальные размерности микробных и растительных данных вегетационного опыта с ячменем, можно утверждать, что микробиологическая гумификация соломы в почве (вар. 2) повышает адаптационный потенциал растительно-микробной системы (вар. 1 $f = 0,62 >$ вар. 2. $f = 0,55$ по высоте растений). В этом опыте адаптации растений сопровождаются увеличением сложности микробных биосетей (вар. 1 $f = 0,74 <$ вар. 2. $f = 1,00$ биосетей). Таким образом, преобразовательная деятельность почвенных микроорганизмов может вносить существенный вклад в повышение адаптационного потенциала биосистем.

Заключение и выводы

Проведенный фрактальный анализ морфометрических данных немикробных компонентов биосистем и структуры сопутствующих микробных сообществ позволяет утверждать, что в меняющихся экологических условиях биологические объекты, проявляющие повышенную чувствительность к изменениям окружающей среды, используют механизм групповой адаптации, распределяя адаптационные генетические планы между всеми экземплярами биосистем. При этом сопутствующие микробные сообщества, взаимодействуя с немикробными компонентами биосистем, усложняют конфигурацию биосетей и создают благоприятные условия для развития системных партнеров.

Литература

- Воробьев Н. И., Свиридова О. В. и др. Граф-анализ генно-метаболических сетей почвенных микроорганизмов, трансформирующих растительные остатки в гумусовые вещества // Сельскохозяйственная биология. 2011. (Сер.: Биология растений). №3. С. 88–93.
- Воробьев Н. И., Проворов Н. А. и др. Фрактальный анализ адаптационных свойств микробно-растительных систем // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2012. (Сер.: Біологія, біотехнологія, екологія). Вип. 178. С. 75–83.
- Воробьев Н. Н. Числа Фибоначчи. М., 1969. 112 с.
- Глотов Н. В., Животовский Л. А. и др. Биометрия. Л., 1982. 264 с.
- Гусев В. А. Арифметика и алгебра в структуре генетического кода, логика в структуре генома и биохимическом цикле самовоспроизводства живых систем // Вестник ВОГИС. 2005. Т. 9. № 2. С. 153–161.
- Долгонос Б. М., Губернаторова Т. Н. Кинетика ферментативной деструкции органических макромолекул с фрактальной структурой // Теоретические основы химической технологии. 2007. № 6. С. 671–680.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1973. 336 с.

- Кроновер Р. М.* Фракталы и хаос в динамических системах. Основы теории. М., 2000. 352 с.
- Лакин Г. Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. М., 1990. 352 с.
- Мандельброт Б.* Фрактальная геометрия природы. М., 2002. 656 с.
- Новиков В. У., Козлов Г. В.* Фрактальный анализ макромолекул // *Успехи химии*. 2000. Т. 69. № 4. С. 378–399.
- Новиков В. У., Козлов Г. В.* Структура и свойства полимеров в рамках фрактального подхода // *Успехи химии*. 2000. Т. 69. № 6. С. 574–600.
- Проворов Н. А., Воробьев Н. И.* Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. СПб., 2012. 400 с.
- Шредер М.* Фракталы, хаос, степенные законы. Ижевск, 2005. 528 с.
- Dembski W. A., Wells J.* The Design of Life: Discovering Signs of Intelligence in Biological Systems. 2008. 339 p.
- Higuchi R.* Kinetic PCR Analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions // *Biotechnology*. 1993. № 11. P. 1026–1030.
- Liu W., Marsh T., Cheng H., Forney L.* Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. № 63. P. 4516–4522.
- Meyer S. C.* Signature in the Cell: DNA and the Evidence for Intelligent Design. 2009. 611 p.
- Schütte U. M. E. et al.* Advances in the use of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of 16S rRNA genes to characterize microbial communities // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008. № 80(3). P. 365–380.
- Wier, Bruce S.* Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Massachusetts, 1996. 458 p.

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ И ТЕКУЩИЙ АНАЛИЗ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДАННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНФОРМАЦИОННО-ПОИСКОВЫХ СИСТЕМ

Н. В. Зобова

Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии,
Красноярск, Россия, e-mail: zobovnat@mail.ru

Резюме

Анализ программных продуктов, созданных сибирскими учеными для использования в селекции зерновых культур, отражает как их информационно-оценочную направленность, так и аналитическую. Рассмотрены некоторые примеры и подходы к анализу многолетних данных с применением информационно-поисковых систем, баз данных, критериев и алгоритмов оценки эффективности селекционных этапов.

Ключевые слова: информационные технологии, базы данных, информационно-поисковые системы, селекция, зерновые культуры.

INFORMATION RETRIEVAL SYSTEMS ASSISTED RETROSPECTIVE AND CURRENT ANALYSIS OF BREEDING DATA

N. V. Zobova

Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture of the Russian Agriculture Academy,
Krasnoyarsk, Russia, e-mail: zobovnat@mail.ru

Summary

The analysis of software products created by Siberian scientists for the use in cereal crop breeding reflects both their information-evaluation and analytical orientation. Some examples and approaches to the analysis of long-term data using information retrieval systems, databases, criteria and algorithms for evaluating the effectiveness of breeding stages.

Key words: information technology, database, information storage and retrieval systems, breeding, cereals.

Введение

В наше время ни одна из сторон жизни не обходится без информационных технологий и использования компьютерной техники. Безусловно, они оказываются необходимыми и в сельскохозяйственной науке, в частности, для автоматизации и ускорения процесса селекции растений. Отличительной особенностью селекционного процесса является многолетняя, целенаправленная, широкомасштабная работа по выделению перспективных исходных форм, подбору родительских пар, созданию селекционного материала и его оценке в питомниках и сортоиспытании (Ведров, 2000; Альт и др., 2008а; Сурин, 2011). В результате накапливаются большие массивы текущей и ретроспективной информации как на бумажных, так и на электронных носителях.

Селекционные данные отличаются – кроме большой размерности – непараметричностью, а иногда неполнотой и неточностью; они включают результаты нескольких десятилетий наблюдений за объектами отбора. Для корректировки и ускоренного анализа их необходимо структурировать и преобразовать в электронную форму, допускающую автоматизированную обработку. Необходимо отметить, что утраченные в результате условий хранения и других причин исходные данные практически не могут быть восстановлены в повторных экспериментах. Безусловный

интерес представляет не только современная текущая селекционная информация, но и накопленная в предыдущие годы. Ее многоаспектный анализ – источник уникальных сведений для оптимизации селекционного процесса и подготовки молодых кадров. Наиболее целесообразным и доступным для этого способом является создание электронных баз данных. По этой причине математическая модель и методика численных расчетов, реализуемых программным обеспечением, могут обеспечивать эффективную и полноценную (корректную) обработку малодостоверных, фрагментированных и непараметрических данных больших объемов. Имеющегося научного потенциала и приборного обеспечения для этого сейчас достаточно.

С целью оптимизации выбора сортов сибирской селекции в качестве исходных форм в других регионах и ускорения создания новых перспективных форм сельскохозяйственных культур нами разработаны и предлагаются к использованию как паспортно-описательные, так и оценочные базы данных. Для манипуляции с этими базами созданы информационно-поисковые системы (ИПС), позволяющие оперативно получать информацию, адекватно характеризующую как хозяйственно-ценные, ботанические, биологические, генетические (по спектрам запасных белков) и другие признаки, так и эффективность этапов селекции. Разработанные программные продукты, их структура и наполнение отличаются от других ретроспективным и практическим направлением использования.

Материалы и методы

Наполнение баз характеризуется следующими параметрами.

База данных «Сорта ячменя» содержит исходные базы, созданные в приложении Microsoft Access, а система управления разработана с применением программной среды Delphi.

ИПС «Селекция» создана на основе СУБД Visual FoxPro 5.0. Она включает в себя программу для ЭВМ «SELA» и базу данных «Селекция растений», которые зарегистрированы в Роспатенте (Озоль и др., 2004; Зобова и др., 2003). База данных «Селекция растений», содержит сведения селекционных журналов, начиная с осуществленных гибридных комбинаций и заканчивая конкурсным сортоиспытанием, что отражается в ее интерфейсе. Формирование базы осуществлялось по данным селекции ячменя, проведенной в Красноярском НИИСХ под руководством академика Россельхозакадемии Н. А. Сурина. В базу данных введены данные о 164 скрещиваниях ярового ячменя, полученных с использованием 99 исходных форм из 14 эколого-географических групп (ЭГГ), охватывающих все континенты. В основных файлах базы данных селекционных питомников ячменя содержится более 17000 записей. Включенный в базу временной период исследования составил 19 лет.

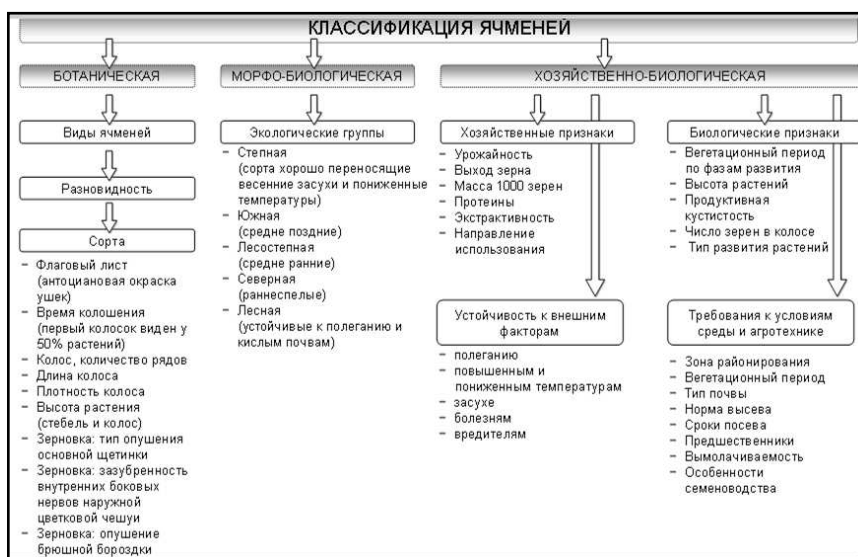
Электрофорез запасных белков ячменя – гордеинов проводили в 13%-ном крахмальном геле в присутствии 3М мочевины по методике А. А. Поморцева с соавторами (2004) с модификациями. Результаты анализа записывали в виде генетических формул по локусам гордеинов А, В и F согласно каталога блоков компонентов гордеинов (Поморцев и др., 1985).

В разработке данных программных продуктов участвовали сотрудники Красноярского НИИСХ и СибФТИ Россельхозакадемии, а также Красноярского аграрного и Сибирского федерального университетов.

Результаты и обсуждение

Совместными усилиями СибФТИ и Красноярского НИИСХ разработана информационно-поисковая система «Сорта ячменя сибирской селекции», в которую входит программа «Сорта ячменя (client/server)» (Альт и др., 2008б) и база данных

«Сорта ячменя» (Альт и др., 2009), которая основана на классификационных признаках ячменя, включающих ботанические, морфо-биологические и хозяйственные характеристики (рис. 1, а). На данный момент эта база данных содержит текстовый и графический (фото) материал по 24 сортам ячменя, предоставленный НИУ Сибирского региона (СибНИИРС, СибНИИСХ, КрасНИИСХ, КемерНИИСХ, БурНИИСХ), включающий комплекс из 60 признаков (авторы и оригинаторы сорта, родительские формы, вегетационный период, урожайность, устойчивость к стрессовым факторам, требования к агротехнике и т.д.) (рис. 1, б).



а

Результаты поиска

Название сорта: Яровой ячмень Соболек

Выбранные признаки и их значения:

Признак	Значение
Организация	ГНУ Красноярский НИИСХ
Зона районирования	Красноярский край
Тип куста (индекс 1-9)	Прямостоячий - 1
Величина листьев в п	Широколиственный

Признаки сорта:

- Исходный материал
- Экологическая группа
- Зона районирования, регион
- Ботаническая характеристика
 - Разновидность
 - Тип куста (индекс 1-9)
 - Флаговый лист
 - Время колошения (перв
 - Величина листьев в п
 - Колос
 - Ости
 - Стерильный колосок
 - Стержень колоска (зигз
 - Зерновка
 - Тип развития растения

Сведения о сорте:

Название: Яровой ячмень Соболек

Новый поиск

Отчет

Показать фото

Назад

б

Рис. 1. Классификационные признаки сортов ячменя (а) и интерфейс результатов выбора сорта в базе данных «Сорта ячменя» (б)

База данных «Сорта ячменя» позволяет оперативно анализировать свойства сортов и выбирать среди них необходимые для селекции и использования в производстве на определенные цели, в том числе путем выделения параметров поиска; использовать данные и фотографии в качестве прекрасного учебного пособия по

селекции. Предполагается дальнейшее наполнение этой базы данных за счет новых сортов, создаваемых селекционерами Сибири и допущенных к использованию.

Использование современных молекулярно-генетических маркеров направлено на улучшение зерновых культур, поиск благоприятных аллелей при создании новых ценных форм, построение родословных и подбор родительских пар при скрещивании, получение гетерозисных гибридов и повышение эффективности селекционного процесса в целом.

В Красноярском НИИСХ по результатам собственных исследований составлен каталог спектров запасных белков зерновки ячменя, который включает формулы гордеинов более тысячи сортов и селекционных линий Сибири (Зобова, 2009). Данные этого каталога используются не только в идентификации сортов и в семенном контроле, но и в текущем анализе селекционного материала при определении приоритетов наследования аллельных вариантов в определенных агроэкологических условиях и отборе форм ячменя по разным направлениям. Последнее возможно в связи с имеющимися данными по взаимосвязи этих маркеров с хозяйственно-ценными признаками и адаптивными свойствами (Зобова, 2009). Формирование аналогичного каталога начато для запасных белков пшеницы глинадинов.

Бурное развитие как возможностей компьютерной техники и соответственно информационных технологий, так и биологических исследований, включая физиологические, молекулярно-генетические, иммунологические методы и их приборное обеспечение, позволили многократно увеличить объем сопутствующих селекции наблюдений и проводить их разносторонний анализ.

Представленные базы данных, однако, носят информационно-описательный характер и служат в основном для выбора определенных сведений, необходимых для интенсификации селекционного процесса. Наиболее перспективны и интересны аналитические возможности создаваемых информационных систем и технологий.



Рис. 2. Схема движения объектов (родительских, материнских, отцовских форм, гибридных комбинаций, отдельно и в составе ЭГГ) по этапам селекционного отбора

Идея создания селекционной оценочной базы данных возникла из поиска более объективных критериев использования в гибридизации тех или иных исходных форм для создания новых сортов с ценными признаками, имеющими полигенный характер. Поскольку в течение многолетней селекционной работы ряд исходных форм неоднократно использовался в скрещиваниях, в том числе прямых и обратных, то потомки этих гибридных комбинаций насчитывают не одну сотню линий, прошедших по этапам отбора (рис. 2). Из приведенной схемы следует, что каждой родительской форме (мать, отец), самой гибридной комбинации, определенной эколого-

географической группе исходных форм можно поставить в соответствие количественный профиль прохождения их потомков по этапам селекции. При этом число потомков от любой гибридной комбинации в селекционном питомнике первого года (СП-1) максимально по сравнению с последующими этапами отбора и минимально (или отсутствует) – в конкурсном сортоиспытании (КСИ). Целесообразно было разработать количественные способы сравнения этих форм по эффективности их участия в создании перспективного (как минимум – присутствие в КСИ третьего года) селекционного материала.

Такой комплекс программных продуктов, обозначенных нами как информационная система «Селекция», создан для накопления, хранения и многоаспектного анализа, в том числе ретроспективного, селекционных данных и включает базу данных «Селекция растений» и ИПС «Sela».

Созданная база данных, используя иерархический подход, содержит многолетние данные (15 лет) и ставит в соответствие осуществленным гибридным комбинациям линии их потомков, полученных на всех этапах селекционного процесса, вплоть до их браковки либо передачи перспективных образцов на государственное сортоиспытание. Схема базы данных «Селекция растений» соответствует всем этапам селекционного процесса, поля таблиц включают вводимые при этом обозначения и изучаемые характеристики создаваемых форм (рис. 3).

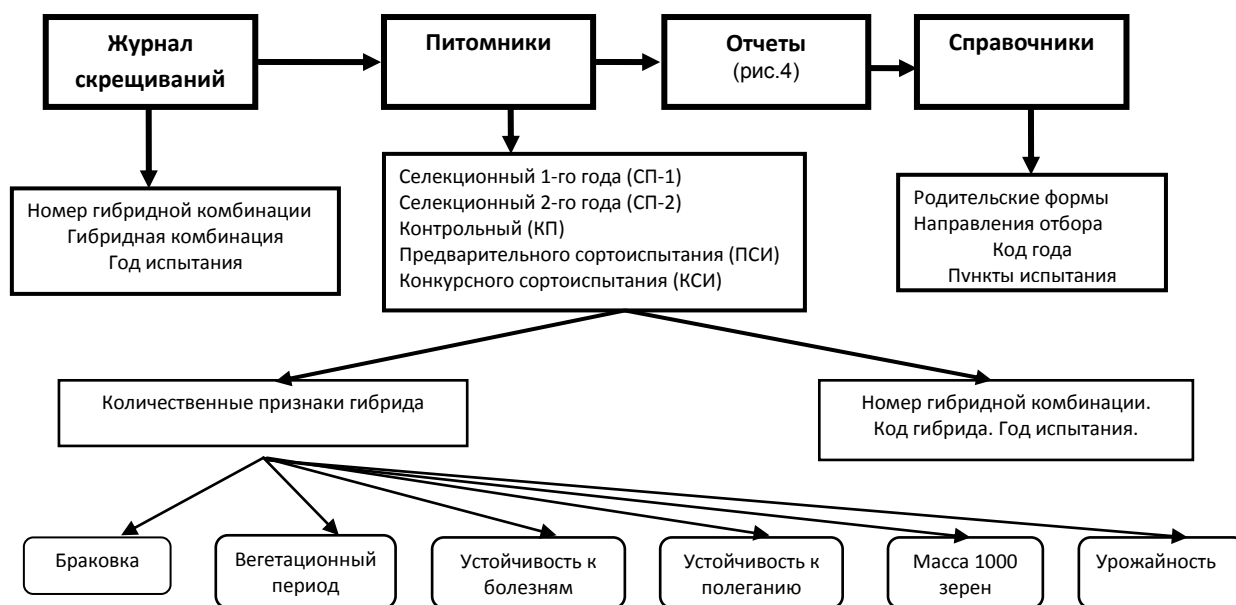


Рис. 3. Блок-схема базы данных «Селекция растений»

Пример одной из основных экранных форм для добавления/редактирования сведений по потомкам гибридных комбинаций приведен на рисунке 4, где прослеживается связь между годом гибридизации, шифром осуществленной комбинации, ее родительскими формами, количеством отобранных в селекционный питомник потомков и их свойствами.

ИПС «Sela» предназначена для выполнения функций по обслуживанию базы данных и позволяет: а) просматривать информацию в удобном табличном формате; б) осуществлять быстрый поиск нужной информации практически по любому параметру; в) в диалоговом режиме вводить новую информацию и формировать отчеты по разнообразным сочетаниям параметров, включая суммарные характеристики данных; г) использовать предложенные относительные характеристики (коэффициенты) успешности использования в гибридизации исходного материала;

д) распечатывать в виде отчетов и таблиц информацию на бумажных или сохранять ее на внешних электронных носителях; е) сортировать данные по любому из имеющихся параметров.

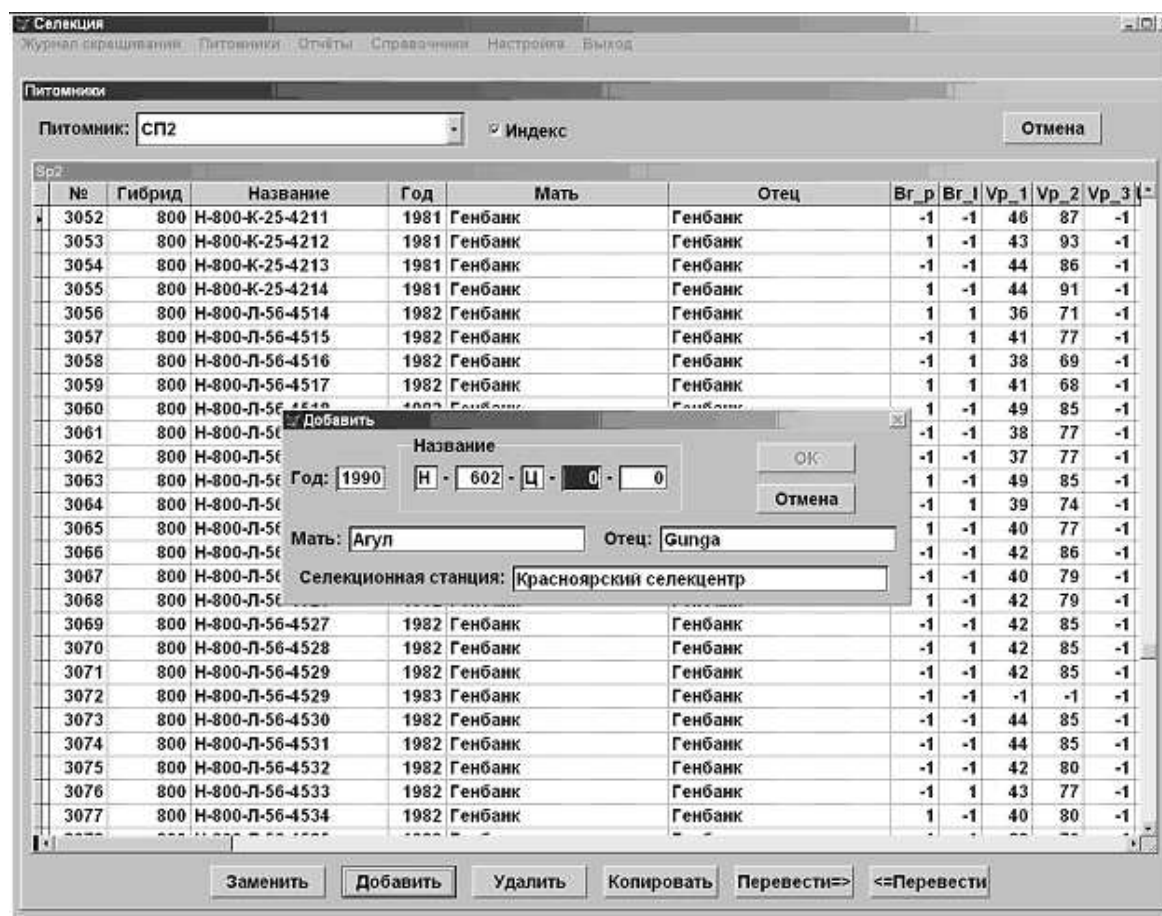


Рис. 4. Основная экранная форма для редактирования данных по потомкам гибридных комбинации в селекционном питомнике СП2 базы «Селекция растений»

Для отражения объектов и направлений анализа данных в ИПС «Sela» предусмотрены девять форм отчётов (специализированное форматированное представление выбранных по определенным параметрам данных, выводимое на экран, печатающее устройство или в текстовый файл) (рис. 5). С помощью легко осуществляемых запросов и экранных форм отчётов данные из базы представляются в наиболее удобном для пользователя виде.

Формируемые отчеты имеют следующие направления: информационные – по журналу скрещиваний, предоставляющие выбор гибридной комбинации, года и направления отбора; статистические, включающие номер поколения гибрида, суммарные характеристики присутствия (числа) объектов или их потомков в указанные исследователем периоды по питомникам; количественные, характеризующие признаки потомков, родительских форм и используемых стандартов; сводные, отражающие эффективность скрещиваний на разных этапах селекции – по числу (суммарно) потомков отдельных комбинаций, родительских форм в составе комбинаций или использованных в качестве материнской либо отцовской формы (рис. 6).

Формирование отчетов в виде текстовых файлов (см. рис. 6) позволяет экспортировать данные в таблицы Excel и статистические программы (Statistica, Snedecor и др.) для проведения их разностороннего анализа.

Нами предложены подходы использования ретроспективных данных для определения успешности привлечения исходных форм в качестве источников перспективного селекционного материала и новых сортов. Они включают следующие принципы:

– Родительские формы, безусловно обладая положительными отличительными чертами, обеспечивают улучшение соответствующих характеристик местных форм ячменя (Сурин, 2011). Количество вовлеченных в гибридизацию исходных форм очень неравномерно и интересно не само по себе, а по отношению к осуществленным комбинациям и их успешности.

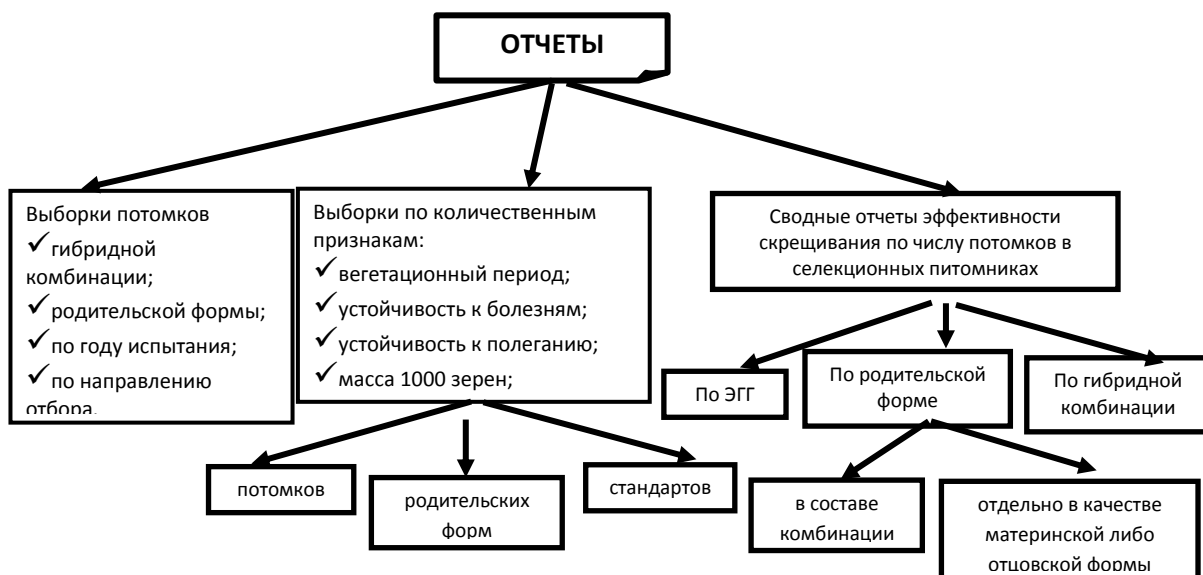


Рис. 5. Блок-схема представления отчетов по данным базы «Селекция растений» с помощью ИПС «Sela»

Селекция

Журнал скрещивания Питомники Отчеты Сводочный Настройка Выход

Report Designer - rep2a.frx - Page 1

Селекционный питомник СП2.
Использование выбранных сортов
в качестве родительской формы.

Род-ская форма	Наименование	Год	Направление	Номер по- луче- ния	Общее число потом- ков	Общее число отцов- ских	Число испытаний в качестве:
№ ком- бина- ции							мат-ой формы
Bankuti Koral							
808	Gefinde * Bankuti Koral	1983	качество	F3	3		
809		1984	качество	F4	26		
809		1985	качество	F5	7		
809		1983	продуктивность	F3	3		
809		1984	продуктивность	F4	26		
809		1985	продуктивность	F5	7		
811	Bantan * Bankuti Koral	1984	качество	F4	11		
811		1985	качество	F5	2		
811		1984	продуктивность	F4	11		
811		1985	продуктивность	F5	2		
865	Bankuti Koral * Неполетящий	1985	качество	F3	8		
865		1986	качество	F4	7		
865		1987	качество	F5	83		
865		1988	качество	F6	21		
865		1990	качество	F8	...		

Рис. 6. Пример представления отчета по данным базы «Селекция растений» с помощью ИПС «Sela» в текстовом формате

– Если динамика привлечения в селекцию исходного материала связана с осуществленным исследователями объемом гибридизации, что в значительной мере определяет наполнение селекционных питомников в последующие годы, то выбраковка по этапам селекции уже отражает действие экологических факторов, а не только субъективного влияния селекционера. В связи с этим попадание потомков родительских форм в старшие питомники зависит как от частоты их привлечения в гибридизацию, так и от успешности прохождения их потомков по этапам селекции.

– Для сравнительной оценки целесообразности дальнейшего использования в гибридизации отдельных родительских форм или материала определенных регионов предложен ретроспективный подход, включающий относительные показатели. Например, такие как сравнение ЭГГ по коэффициенту, отражающему отношение количества успешных комбинаций (имеющих потомков) на количество использованных при этом родительских форм, на всех рассмотренных этапах селекции (Зобова, 2006). Или для сравнения родительских форм могут быть использованы коэффициенты, равные отношению количества потомков и числа гибридных комбинаций с этим родителем (суммарно либо в качестве отцовской или материнской формы) (Зобова и др., 2005; Зобова, 2008).

Предложен критерий определения целесообразности использования исходных форм в качестве доноров адаптивности по коэффициенту КЭФО, равному количеству линий, отобранных в СП-1 от одной гибридной комбинации, который определяется на самом раннем этапе селекции. Пример такого расчета представлен в таблице, из которой хорошо видно, что линия С-69-9083, сравнительно мало привлекаемая в гибридизацию, имеет высокий КЭФО, равный 32,9, и самое многочисленное потомство в КСИ третьего года.

Характеристика потомства родительских форм гибридных комбинаций, с самыми многочисленными отборами в СП-1

Родительская форма	Количество гибридных комбинаций	КЭФО	Количество линий в питомнике			
			СП-1	КП	КСИ-1	КСИ-3
Красноярский 80	82	8,32	682	260	7	2
Кедр	45	17,8	803	373	22	3
Дина	20	16,9	338	203	5	1
Г-15910	15	10,2	153	44	6	–
К-27058	19	10,6	201	90	1	–
Г-15910	15	10,2	153	44	6	1
У-53-851	7	26,9	188	80	5	1
С-69-9083	7	32,9	230	115	21	8

Предложенный коэффициент имеет значимую положительную корреляцию с отбором в СП-2 ($r = 0.368$), в предварительном сортоиспытании (ПСИ) (0.453), в КСИ (0.512) (пороги достоверности, соответственно, на уровне 1% – $r=0.4179$, 5% – $r=0.3180$), что позволяет использовать его при определении успешности включения исходной формы в гибридизацию уже на раннем этапе (отбор в СП-1) (Зобова, 2008).

Понятно, что чем выше коэффициент, тем перспективнее форма, его имеющая. С использованием сведений базы данных нами выделены сорта и линии красноярской селекции, наиболее подходящие на роль доноров адаптивных свойств в условиях Красноярского края.

Суммируя сказанное, можно дать биологическую трактовку этому коэффициенту – чем более разнообразный в количественном и качественном отношении отбирается материал на ранних этапах селекции, тем более вероятно выделение из него перспективных для конкретной зоны форм.

Интегрирование каталога спектра гордеинов с БД «Селекция ячменя» позволяет оперативно осуществлять проверку соответствия родословной сортов и селекционных

линий, отличать мало различимые по комплексу фенотипических признаков формы, определять источники появления минорных биотипов в гомогенных по гордеинам сортах при их воспроизводстве, исследовать взаимосвязи аллельных вариантов блоков гордеинов с хозяйственно-ценными признаками, выделять контрастные по этим признакам формы.

Еще одним немаловажным направлением использования этой и подобных баз данных, особенно отражающих многолетние количественные характеристики селекционных и районированных форм, является возможность проведения мониторинга по влиянию изменений климата на хозяйственные свойства сельскохозяйственных культур и зерновых, в частности. Актуальность этого направления вытекает из опасений глобального потепления и учета этого процесса в хозяйственной деятельности человека.

Таким образом, ИПС «Селекция» служит для обеспечения информационно-аналитической поддержки селекционного процесса как в направлении хранения и возможной корректировки натурных данных, полученных в результате полевых и лабораторных оценок, так и для их статистического и математического анализа, а также возможности использования этих данных во времени и пространстве. Позволяет проводить оперативное прогнозирование эффективности использования в гибридизации тех или иных исходных форм с учетом их эколого-географического происхождения, комбинационной способности и донорных свойств.

Дальнейшее развитие информационных технологий в области селекции возникает в связи с необходимостью интеграции фенотипических, генотипических, селекционных, хозяйственных данных и разработки алгоритмов обработки информации, которые могут быть реализованы в программном продукте и использованы для оптимизации и ускорения этапов селекционного процесса.

Так, усилиями сотрудников Института цитологии и генетики СО РАН и Новосибирского государственного университета для анализа взаимосвязи фенотип–генотип–окружающая среда у пшеницы создана компьютерная система WheatPGE. Система служит для интеграции разнородных данных о растении, хранения информации об отношениях, описывающих различные характеристики растения, его генотипа, фенотипа и факторов внешней среды и доступа к ней. Система имеет web-интерфейс и доступна по адресу www.wheatdb.org (Генаев и др., 2011). Сотрудниками Сибирского физико-технического института аграрных проблем Россельхозакадемии и Сибирского научно-исследовательского института растениеводства и селекции Россельхозакадемии разработаны база данных по формам тритикале и программа для интегральной селекционной оценки этих форм, основанной на предложенном авторами алгоритме базовой оценки количественного признака и коэффициента его значимости (Гребенникова и др., 2012 а, б). Для повышения эффективности селекции служит и разработка программ для определения плоидности растений (Кузнецова, Аполинарьева, 2012).

Заключение

В данной работе приведены лишь некоторые подходы к анализу многолетних селекционных данных с применением информационных технологий (баз данных, ИПС, статистического анализа). На наш взгляд, необходимо шире использовать как сами базы данных, так и возможности, предоставляемые ретроспективными селекционными данными и их анализом. Созданные базы данных, как и другие аналогичные программные продукты, имеют широкие перспективы использования как в качестве самостоятельных ресурсов, так и составляющих элементов современных информационных технологий. Без этих элементарных ячеек будет затруднен мобильный обмен информацией между специалистами, занятыми созданием и

воспроизводством сортов сельскохозяйственных культур, и переход к технологиям точного земледелия.

Если оценочные базы данных позволяют осуществлять выбор лучших сортов по фенотипическим индексам, подбор родительских компонентов для реализации селекционных моделей, то селекционные – кроме стандартных функций хранения и поиска информации – предоставляют возможность обработки имеющихся в базе сведений путем формирования и экспорта структурированных по требуемым параметрам данных в статистические программы. Таким образом, селекционеры имеют уникальную возможность оперативного получения информации, ее комплексного анализа и математической обработки, проведения математического моделирования и оценки влияния изменений климатических факторов на основные селекционные и хозяйственные характеристики бывших, существующих и перспективных форм зерновых культур.

Созданные сибирскими учеными программные продукты являются универсальными, могут служить полноценным инструментарием для хранения и последующей статистической обработки накопленных данных не только по зерновым, но и другим растительным культурам, для интенсификации процесса селекции растений и, в конечном счете, уменьшения сроков создания новых сортов.

Литература

- Альт В. В., Гончаров П. Л. и др. Методология формирования баз данных по сортам пшеницы и ячменя // Вестник ВОГиС. 2008а. Т. 12. № 4. С. 717–725.
- Альт В. В., Гурова Т. А. и др. Поисковая база данных «Сорта ячменя» для решения селекционных и производственных задач // Материалы 4-й междунар. научно-практ. конф. «АГРОИНФО-2009». Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, 2009. С. 123–126.
- Альт В. В., Гурова Т. А., и др. ИПС «Сорта ячменя (client/server)» // Реестр программ для ЭВМ, свидетельство о регистрации № 2008614724 от 01.10.2008.20086.
- Ведров Н. Г. Селекция и семеноводство полевых культур. Красноярск, 2000. 225 с.
- Генаев М. А., Дорошков А. В. и др. Компьютерная система WheatPGE для анализа взаимосвязи фенотип–генотип–окружающая среда у пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 4. С. 784–793.
- Гребенникова И. Г., Степочкин П. И. и др. Компьютерная программа для исследования генетической системы и селекции тритикале // Селекция сельскохозяйственных культур на устойчивость к экстремальным факторам среды в аридных зонах Сибири: Матер. междунар. науч.-практ. конф. (Улан-Удэ, 2010 г., июль). Новосибирск, 2012. С. 64–68.
- Гребенникова И. Г., Степочкин П. И. и др. Применение информационных технологий при оценке селекционного материала яровых тритикале // Материалы 5-й междунар. научно-практ. конф. «АГРОИНФО–2012». Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, 2012. С. 86–91.
- Зобова Н. В. Использование информационных технологий для выявления донорных свойств ярового ячменя // Сибирский вестник с.-х. науки. 2008. №12. С. 87–93.
- Зобова Н. В. Повышение устойчивости ячменя к стрессовым биотическим и абиотическим факторам в Сибири (генетико-биотехнологические аспекты): Автореф. дисс ... д-ра биол. наук. Красноярск, 2009. 32 с.
- Зобова Н. В. Применение СУБД для селекционно-экологического обоснования подбора родительских пар в создании адаптивных форм ячменя // «АГРОИНФО-2006» : Материалы междунар. науч.-практ. конф. Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, 2006. С. 147–150.
- Зобова Н. В., Позднякова О. В. и др. База «Селекция растений». Роспатент, свидетельство о регистрации № 2003620241 от 30 окт. 2003 г.
- Зобова Н. В., Позднякова О. В. и др. Ретроспекция результатов скрещивания ярового ячменя для прогнозирования перспективности исходного материала определенных эколого-

- географических групп // Проблемы экологии Сибири. Красноярск : Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2005. С. 106–113.
- Кузнецова Л. Л., Аполинарьева И. К.* Использование программной среды R при определении ploидности у растений на примере *Fragaria* // «АГРОИНФО–2012»: Материалы 5-й междунар. научно-практ. конф.. Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние. 2012. Ч.1. С. 110–114.
- Озоль А. В., Зобова Н. В.* и др. Программа для ЭВМ «SELA». Роспатент, свидетельство о регистрации № 2004611466 от 15 июня 2004 г.
- Поморцев А. А., Кудрявцев А. М.* и др. Методика проведения лабораторного сортового контроля по группам сельскохозяйственных растений. М., 2004. 96 с.
- Поморцев А. А., Нецветаев В. П.* и др. Полиморфизм культурного ячменя (*H. Vulgare*) по гордеинам // Генетика. 1985. Т. 21. № 4. С. 629–639.
- Сурин Н. А.* Адаптивный потенциал сортов зерновых культур сибирской селекции и пути его совершенствования (пшеница, ячмень, овес). Новосибирск, 2011. 708 с.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ КАРТОФЕЛЯ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЗАХСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

В. Ф. Красавин, Т. Е. Айтбаев

Казахский научно-исследовательский институт картофелеводства и овощеводства, с. Кайнар,
Алматинская обл., Казахстан, e-mail: niikoh.nauka@rambler.ru

Резюме

Исследования по изучению 1500 образцов картофеля мировой коллекции проводили в 2007–2011 гг. в Алматинской области Казахстана в двух почвенно-климатических зонах (предгорной, подверженной сильному вырождению картофеля, и горной, благоприятной для возделывания картофеля).

Ключевые слова: картофель, селекция, биология, генетика, переработка.

POTATO GENETIC RESOURCES AND THEIR USE IN BREEDING IN KAZAKHSTAN

V. F. Krasavin, T. E. Aitbaev

Kazakh Research Institute of Potato and Vegetable Growing, Kaynar,
Almaty Province, Kazakhstan, e-mail: niikoh.nauka@rambler.ru

Summary

Fifteen hundred accessions from the global potato collection were studied in 2007–2011 in the Almaty Province of Kazakhstan. The research was carried out in two soil and climatic zones, namely in the foothills characterized by strong degeneration of potato and in the mountains favorable for potato cultivation.

Key words: potatoes, selection, biology, genetics, process.

Введение

В Казахстане картофель является одним из основных продуктов питания и по своей значимости занимает второе место после зерновых. Площади посадок под данной культурой в республике составляют порядка 170 тыс. га, однако из-за низкой урожайности валовый сбор клубней не обеспечивает потребность народного хозяйства. Жаркий и засушливый климат большинства регионов Казахстана и распространение тяжелых форм вирусных заболеваний становятся причиной того, что многие высокопродуктивные сорта отечественной и зарубежной селекции уже на второй-третий год репродукции резко снижают урожайность, семенные качества и вырождаются. Наряду с вырождением, значительные потери урожая и снижение их товарных и семенных качеств вызваны поражением картофеля грибными, бактериальными и неинфекционными болезнями. В решении данной проблемы главная роль отводится селекции. Основным источником пополнения новых признаков остается мировая коллекция, изучение которой позволяет осуществлять оценку степени проявления основных хозяйственно-ценных признаков в конкретных условиях выращивания, выявлять лучшие образцы по отдельным признакам и формировать признаковую коллекцию источников для селекции картофеля. Исследования по изучению образцов картофеля мировой коллекции проводили в 2007–2011 гг. в Алматинской области Казахстана, в двух почвенно-климатических зонах (предгорной, где постоянно наблюдается сильное вырождение картофеля, и горной, благоприятной для возделывания этой культуры). В задачу исследований входило изучение

биологических особенностей образцов из мировой коллекции картофеля в условиях юго-востока Казахстана и выделение исходного материала для селекции.

Материалы и методы

В исследованиях использовали 1500 образцов мировой коллекции. По происхождению половина сортов и межвидовых гибридов, созданных российскими селекционерами, 19% образцов из стран Европы, 18% образцов казахстанской селекции, а 13% образцов из других стран мира. В качестве стандартов использовались лучшие сорта, районированные в Алматинской области. К ним относятся раннеспелый сорт Latona, среднеранний сорт Тениз и среднеспелый сорт Аксор. Изучение и оценку коллекционного материала проводили на основе методических указаний и рекомендаций: Всероссийского НИИ картофельного хозяйства им. А. Г. Лорха (Симаков и др., 2006); Всероссийского НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова (Шинкарев, 1988; Киру и др., 2010) и НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству (Банадысев и др., 2003). По ряду исследуемых специфических вопросов внесены изменения и дополнения к перечисленным выше методическим рекомендациям. Так, для изучения жаростойкости использовали методы Ф. Ф. Мацкого (Мацков, 1936) и М. Д. Кушниренко (Кушниренко, 1975), а также О. П. Зубкуса (1976) с модификациями, разработанными нами для культуры картофеля (Мошняков и др., 1997). Определение реакции клубней на воздействие высоких температур проводили по методикам Н. Н. Иванова (1923), В. Ф. Альтергота (1963) и П. А. Генкеля (1979). Засухоустойчивость образцов определяли по Ф. А. Новикову (1940) и Г. В. Удовенко (1973).

Результаты и обсуждение

Погодные условия для картофеля в период вегетации складывались неодинаково по годам исследований. Наиболее благоприятными были 2009-й и 2010-й годы. В остальные годы, в период образования клубней (июнь–август), наблюдалась жаркая и сухая погода, позволившая достоверно оценить образцы по жаро- и засухоустойчивости. В результате комплексной пятилетней оценки образцов, были сформированы признаковые коллекции для использования в селекционной работе. Многообразие генетических ресурсов позволяет решать различные задачи казахстанской селекции. Так, из 1500 образцов генофонда картофеля Республики Казахстан 14% составляет группа ранних, 18% – среднеранних, 50% – среднеспелых, 18% – среднепоздних и поздних. В качестве исходного материала для селекции картофеля на полевую устойчивость к вирусным болезням можно использовать сорта: Акколь, Аксор, Алатау, Арал, Арника, Архидея, Астана, Аул, Балобай, Барон, Барс, Bellarosa, Berber, Беркут, Бирлик, Бриз, Валентина, Виза, Голубизна, Гранит, Дельфин, Дина, Дуняша, Донцовский, Елена, Estrella, Жанайсан, Жолбарыс, Жуалы, Журавника, Ирбитский, Камераз, Каменский, Карасайский, Cosmos, Кузнечанка, Ладожский, Лазер, Ласунок, Лилея, Любава, Максим, Мария, Мошняковский, Накра, Нартау, Наяда, Невский, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Отрада, Памяти Боброва, Росинка, Русский сувенир, Скарб, София, Союз, Спиридон, Стрелец, Тамыр, Текес, Тениз, Тобол, Тохтар, Тулеевский, Тянь-Шаньский, Удача, Улан, Уладар, Утенок, Чародей, Шагала, Шортандинский, Явар, Alwara, Valisa, Victoria, Impala, Innovator, Latona, Picasso, Raia, Red star, Rikea, Rosara, Roka, Sante, а также межвидовые гибриды: A3360, A3401, № 5, № 7, 8ж, 13ж, № 57, № 75, № 99, 95-29-1, 95-3-1, 133-02, № 136, № 267, № 275, № 281, № 288, CIP-2, CIP-5, CIP6, CIP7, CIP8, CIP9, CIP11, CIP12, CIP13, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1.

Исходным материалом для селекции картофеля на полевую устойчивость к макроспориозу являются образцы: сорта – Акколь, Аксор, Алатау, Арал, Арника, Архидея, Астана, Аул, Балобай, Барон, Барс, Беркут, Бирлик, Валентина, Гранит, Донцовский, Елена, Жолбарыс, Жуалы, Камераз, Каменский, Карасайский, Кузнечанка, Ладожский, Ласунак, Любава, Максим, Мария, Мошняковский, Нартау, Наяда, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Отрада, Памяти Боброва, Росинка, София, Союз, Стрелец, Тамыр, Текес, Тениз, Тобол, Тулеевский, Тянь-Шаньский, Улан, Утенок, Чародей, Шагалалы, Bellarosa, Berber, Latona, Picasso, Raia, Sante, а также межвидовые гибриды – А3360, А3401, № 5, № 7, 8ж, 13ж, № 57, № 5, № 99, 95-29-1, 95-3-1, 133-02, № 136, № 267, № 275, № 281, № 288, СР-1, СР-2, СР-3, СР-4, СР-5, СР-6, СР-7, СР-8, СР-9, СР-10, СР-11, СР-12, СР-13, СР-14, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1.

В качестве исходного материала для селекции на продуктивность рекомендуется использовать следующие сорта: Акколь, Аксор, Алая заря, Алый парус, Антонина, Арал, Архидея, Астана, Аул, Балобай, Барон, Барс, Беркут, Бирлик, Бородинский розовый, Бриз, Валентина, Виза, Голубизна, Гранит, Дина, Дихан, Донцовский, Дуняша, Елена, Жанайсан, Жолбарыс, Жуалы, Жуковский ранний, Журавника, Ирбитский, Камераз, Каменский, Карасайский, Костанайские новости, Красавчик, Крепыш, Кузнечанка, Ладожский, Лазер, Ласунок, Лилея, Любава, Максим, Мария, Маяк, Накра, Нартау, Наяда, Невский, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Отрада, Памяти Боброва, Петербургский, Русский сувенир, Рябинушка, Скарб, Славянка, София, Союз, Снегирь, Спиридон, Стрелец, Тамыр, Текес, Тениз, Тобол, Тохтар, Тулеевский, Тустеп, Тянь-Шаньский, Удовичский, Удача, Уладар, Улан, Утенок, Фантазия, Чародей, Шагалалы, Шортандинский, Ягодный 19, Aladin, Arosa, Artemis, Asteriks, Bellarosa, Berber, Valisa, Victoria, Gala, Desire, Estrella, Jeaerla, Secura, Impala, Innovator, Cosmos, Latona, Picasso, Raia, Red star, Rosara, Roka, Romano, Sante, Simfonia, Velox, а также гибриды: А3360, А3401, № 5, № 7, 8ж, 13ж, № 57, № 75, № 99, 95-29-1, 95-3-1, 133-02, № 136, № 267, № 275, № 281, № 288, СР-9, СР-13, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1.

Исходным материалом для селекции картофеля на пригодность к переработке являются сорта: Акколь, Аксор, Алена, Алый парус, Архидея, Астана, Аул, Барон, Беркут, Бирлик, Брянский деликатес, Валентина, Голубизна, Дина, Дуняша, Елена, Жанайсан, Жолбарыс, Жуалы, Жуковский ранний, Журавника, Карасайский, Кузнечанка, Лазарь, Ласунок, Лидер, Максим, Мария, Накра, Нартау, Наяда, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Памяти Боброва, Русский сувенир, Рябинушка, Romano, Свитанок киевский, Снегирь, София, Союз, Спиридон, Тамаша, Тамыр, Текес, Тениз, Тобол, Тохтар, Удача, Удовичский, Утенок, Фантазия, Хозяюшка, Чародей, Шагалалы: Adretta, Arosa, Asteriks, Desire, Estrella, Fresco, Gala, Impala, Innovator, Raja, Rosara, Sante, Secura, Valisa, VeIox, Victoria.

Выделены источники жаростойкости и засухоустойчивости. Это такие сорта, как: Адиль, Азанда, Айтмурат, Акжар, Акколь, Аксор, Алатау, Алая заря, Альянс, Арал, Арника, Архидея, Астана, Аул, Балобай, Барон, Барс, Бата, Баянды, Беркут, Бирлик, Бриз, Бульба, Валентина, Валерий, Влад, Виза, Голубизна, Гранит, Дидар, Дихан, Дуняша, Дельфин, Дина, Дуняша, Донцовский, Елена, Жанайсан, Жолбарыс, Жуалы, Кайнар, Казахстанский, Карасайский, Когалы, Кормилица, Костанайские новости, Максим, Мария, Мирас, Мошняковский, Нартау, Натали, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Орбита, Памяти Боброва, Союз, Тамаша, Тамыр, Танда, Тандем, Татьяна, Текес, Тениз, Тобол, Тохтар, Тустеп, Тянь-Шаньский, Удовичский, Улан, Ушконыр, Шагалалы, Bellarosa, Berber, Valisa, Victoria, а также гибриды: А3360, А3401, № 5, № 7, 8ж, 13ж, № 57, № 75, № 99, 95-29-1, 95-3-1, 133-02, № 136, № 267, № 275, № 281,

№ 288, СР-2, СР-5, СР6, СР7, СР8, СР9, СР11, СР12, СР13, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1.

В качестве исходного материала с комплексом хозяйственно-ценных признаков в селекции картофеля рекомендуется использовать сорта: Акколь, Аксор, Алатау, Alwaga, Арал, Арника, Архидея, Астана, Аул, Балобай, Барон, Барс, Berber, Беркут, Бирлик, Бриз, Валентина, Виза, Голубизна, Гранит, Дельфин, Дина, Дуняша, Донцовский, Елена, Жанайсан, Жолбарыс, Жуалы, Журавника, Ирбитский, Камераз, Каменский, Карасайский, Кузнечанка, Ладожский, Лазер, Ласунок, Лилея, Любава, Максим, Мария, Мошняковский, Накра, Нартау, Наяда, Никитка, Нур-Алем, Нэрли, Отрада, Памяти Боброва, Росинка, Русский сувенир, Скарб, София, Союз, Спиридон, Стрелец, Тамыр, Текес, Тениз, Тобол, Тохтар, Тулеевский, Тянь-Шаньский, Удача, Улан, Уладар, Утенок, Чародей, Шагалалы, Шортандинский, Явар; Valisa, Victoria, Estrella, Impala, Innovator, Cosmos, Latona, Picasso, Raia, Red star, Rikea, Rosara, Roka, Sante, а также гибриды: А3360, А3401, № 5, № 7, 8ж, 13ж, № 57, № 75, № 99, 95-29-1, 95-3-1, 133-02, № 136, № 267, № 275, № 281, № 288, СР-2, СР-5, СР6, СР7, СР8, СР9, СР11, СР12, СР13, 0-98-3, 2-02-13, 2-99-2, 3-01-5, 3-99-5, 5-98-3, 6-02-15, 6-98-3, 7-02-12, 7-94-0, 7-98-2, 7-98-12, 8-02-5, 8-04-9, 8-98-5, 9-86-2, 10-01-4, 10-02-02, 10-86-2, 27-9-9, 99-9-1.

В 2007–2011 гг. количество образцов генофонда картофеля, использованных в селекционной работе в Казахстане, резко возросло и составило 136 образцов, в том числе: 105 сортов, 5 образцов диплоидных диких и культурных видов, а также 36 межвидовых гибридов.

Заключение

В результате всесторонней пятилетней оценки (2007–2011 гг.) в Республике Казахстан генофонда картофеля, насчитывающего 1500 образцов мировой коллекции, были сформированы признаковые коллекции для использования в селекции на полевую устойчивость к вирусным болезням и макроспориозу, продуктивность и пригодность к переработке. Выделен исходный материал по комплексу хозяйственно-ценных признаков. За этот период количество образцов генофонда картофеля, использованных в селекционной работе в Казахстане, возросло до 136 образцов.

Литература

- Альтергот В. Ф.* Действие повышенных температур на растения // Известия АН СССР. (Серия биологическая). М., 1963. № 1. С. 57–73.
- Банадысев С. А.* и др. Методические рекомендации по специализированной оценке сортов картофеля. Минск, 2003. 70 с.
- Генкель П. А.* и др. О новом лабораторном способе диагностика жаро- и засухоустойчивости для селекции // Физиология растений. М., 1979. Т.17. №2. С. 431–435.
- Зубкус О. П.* К вопросу выбора критериев оценки сортов яровой пшеницы на жароустойчивость // Физиология адаптации растений к температурным условиям среды. Л., 1976. С. 17–170.
- Иванов Н. Н.* Методы физиологии и биохимии растений. М.-Л., 1923. С. 3–18.
- Киру С. Д., Костина Л. И.* и др. Методические указания по поддержанию и изучению мировой коллекции картофеля. СПб., 2010. 27 с.
- Кушниренко М. Д.* Физиология водообмена и засухоустойчивости плодовых деревьев. Кишинев, 1975. С. 7–9.
- Мацков Ф. Ф.* Новый скорый метод распознавания живых, мертвых и поврежденных тканей зеленого растения // Сборник докладов АН СССР. М., 1936. Т. 1. С. 107–110.

- Методические указания по изучению технологических свойств картофеля.* Л., 1988. 133 с.
- Мошняков Н. А., Ившин Е. И., Красавин В. Ф.* Засухо- и жаростойкость сортов картофеля в условиях Алматинской области // Сборник научных тр. по картофелеводству, овощеводству и бахчеводству в Казахстане. Кайнар, 1997. С. 24–32.
- Новиков Ф. А.* Поведение различных видов и форм картофеля в засушливых условиях // Вестник с.-х. науки. 1940. № 4. С. 11–18.
- Симакова Е. А., Склярова Н. П., Яшина И. М.* Методические указания по технологии селекционного процесса картофеля. М., 2006. 38 с.
- Удовенко Г. В.* Характер защитно-приспособительных реакций и причин разной устойчивости растений к экстремальным воздействиям // Труды по прикл. бот., ген. и сел. Л.: ВИР, 1973. Т. 49. № 3. С. 258–268.

ЭКОЛОГО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИРОВОЙ ФЛОРЫ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ГЛОБАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ

Т. В. Кулаковская

Белорусский государственный экономический университет,
Минск, Беларусь, e-mail: clovertv@mail.ru

Резюме

Развитие многофункционального сельского хозяйства, и в частности лугопастбищного хозяйства, способствовало появлению новых научных направлений, исследующих вопросы производства высококачественных кормов и других видов продукции при сохранении биоразнообразия на сельскохозяйственных угодьях в сочетании с рациональным использованием природных ресурсов в целях устойчивого развития.

Ключевые слова: лугопастбищное хозяйство, продуктивность, биоразнообразие, качество корма, кормовые культуры, экологические и экономические аспекты.

ECOLOGICAL AND ECONOMIC ASPECTS OF CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF PLANT BIOLOGICAL DIVERSITY FOR SOLVING GLOBAL PROBLEMS

T. V. Kulakouskaya

Belarus State Economic University, Minsk, Belarus, email: clovertv@mail.ru

Summary

The development of multifunctional agriculture promotes research that helps to make it both competitive and environmentally friendly, stimulates rural development and use of natural resources in a sustainable manner when producing sufficient quantities of safe and affordable feeds and biomass.

Key words: grassland farming, productivity, biodiversity, forage quality, fodder crops, ecological and economic aspects.

В начале 21 века одной из самых серьезных и актуальных задач, стоящих перед человечеством, становится сохранение существующего биологического разнообразия. Хозяйственная деятельность, связанная с разработкой энергетических и продовольственных ресурсов, зачастую имеет агрессивный и губительный характер. Катастрофическое следствие этого – не только нарушение естественного баланса биосферных процессов в целом, но и разрушение локальных экосистем. Единственным решением данной проблемы является поиск и применение принципов рационального использования природных ресурсов. Необходимо, чтобы при экономически эффективной эксплуатации земель не нарушалась стабильность экологических условий.

Позитивным примером является ведение лугопастбищного хозяйства в странах европейской части континента с их различными почвенно-климатическими условиями и биоразнообразием мировой флоры. Залог успешного развития этих земель – в использовании системного подхода в области менеджмента. В результате, в странах Европы луга и пастбища, оставаясь источниками производства кормов, успешно выступают в качестве стабилизатора экологических условий для сохранения природных ландшафтов и биоразнообразия.

На территории EU-27 лугопастбищные угодья занимают общую площадь в 69 млн. га и составляют 36% всех сельскохозяйственных земель или более 13% всей площади EU27 (EUROSTAT, 2010).

Согласно данным проведенного земельного учета (Земельный фонд..., 2001), в России имеется приблизительно 91 млн. га природных кормовых угодий, что составляет более 41% всех сельскохозяйственных земель, а по результатам космической съемки (Лепкович, 2005), природные кормовые угодья занимают площадь 87,6 млн. га, что составляет 23,5% от прежней площади – 373 млн. га. При этом на долю природных пастбищ приходится 64,2 млн. га (73,3%), а скашиваемые луга занимают 23,4 млн. га (26,7%). Для оленьих пастбищ используются 328,1 млн. га. Согласно обобщению данных многочисленных источников (Тюльдюков и др., 1995), в условиях природных сенокосов и пастбищ Российской Федерации произрастают более 10 000 видов, а наиболее распространены из них представители 46 семейств. При этом 80% флоры естественных кормовых угодий представляют 12 семейств, из которых доминируют представители мятликовых, астровых и мотыльковых. Кормовые достоинства изучены у 506 видов злаковых растений (более 50%), 565 – бобовых (31%) и 583 – астровых (22%).

В Беларуси общая площадь сенокосов и пастбищ составляет более 3,3 млн. га, что занимает 36,1% сельскохозяйственных угодий или 15,4% территории страны. В настоящее время в составе растительности Беларуси определено около 12 тысяч видов, в том числе приблизительно 2100 видов высших растений. Флора сосудистых растений насчитывает 1638 видов, при этом в спектре жизненных форм преобладают травянистые виды (более 1500) (Четвертый..., 2009).

Сравнительный анализ данных учета площади лугопастбищных угодий в Евросоюзе, России и Беларуси показывает, что статистические показатели варьируют в пределах 36–41% от площади сельскохозяйственных угодий. Однако в странах Евросоюза площади природных кормовых угодий значительно различаются в зависимости от агроклиматического и экономического потенциала страны. В таблице 1 представлены результаты распределения лугопастбищных угодий и их продуктивность в соответствии с принятым в Европе подразделением на 12 отдельных климатических зон. (Trnka et al., 2011).

Максимальные площади лугопастбищных угодий находятся в зонах Atlantic North (29,3%), Atlantic Central (24,2%), Alpine South (18,0%), а также Lusitanian (13,0%), где имеют место наиболее высокие показатели продуктивности, соответственно: 74,2; 69,6; 32,5; 52,0 т с га.

В последнее время усиливается воздействие климатических изменений на показатели продуктивности лугопастбищных угодий и возделываемых растений – об этом свидетельствуют результаты многих исследований, проведенных в различных странах. Исследования по симуляции погодных условий в Центральной Европе показали, что происходит изменение сроков развития в течение вегетационного периода у десяти видов лугопастбищных растений, при этом диапазон колебаний составляет до 6 дней. По предположениям ученых, при изменении климата около 25–35% видов растений окажутся в новых условиях, что потребует совершенствования системы прогнозирования в целях обеспечения стабильной продуктивности лугопастбищных угодий.

Обобщение и анализ результатов исследования влияния климатических изменений на различные показатели формирования лугопастбищных угодий позволили определить специфические особенности развития травостоев при их возделывании в разных агроклиматических зонах. Установлено, что климатические изменения проявляются в следующих эколого-биологических аспектах: изменение фенологического развития растений на протяжении вегетационного периода; изменение сроков формирования и величины урожайности растений; изменение

ботанического состава травостоя. При этом выявлено сильное воздействие повторяемости засушливых периодов и экстремальных событий на продуктивность лугопастбищных травостоев. В результате проведения аналитической работы установлены лимитирующие факторы формирования продуктивности лугопастбищных угодий и возможная степень их проявления в каждой из 12 агроклиматических зон. В зависимости от изменения климата выявлены следующие лимитирующие факторы: длина вегетационного периода, появление ранних или поздних заморозков, длительность и количество выпавших осадков в период уборки, наличие паводков и наводнений, повреждения растений в течение зимы, повреждение от града, повреждение от засухи, тепловой стресс.

Таблица 1. Площадь лугопастбищных угодий и их продуктивность в 12 климатических зонах

Климатические зоны	Общая площадь (млн. га)	Площадь земель (%)		Лугопастбищные угодья/пахотные земли	Продуктивность ЛПУ, с. м. т / га	Страны, расположенные в климатических зонах (интернет-код страны)
		Лугопастбищные угодья	Пахотные земли			
Alpine North	32,9	4,9	1,9	2,6	40,4	FI, NO, SE
Boreal	83,1	1,2	3,5	0,3	30,9	BY, EE, FI, LV, NO, RU, SE
Nemoral	49,7	2,8	11,5	0,2	33,6	BY, EE, FI, LV, LT, NO, PL, RU, SE
Atlantic North	29,1	29,3	23,0	1,3	74,2	DK, DE, GB, IE, IM, NL, NO
Alpine South	30,2	18,0	2,3	8,0	32,5	AD, AL, AT, BG, BA, CH, CZ, DE, GR, ES, FR, HR, IT, MK, ME, PL, RO, RE, SI, SK, UA
Continental	124,8	8,1	25,7	0,3	42,9	AL, AT, BG, BY, BE, BA CH, CZ, DE, DK, FR, HR, HU, LV LI, LT, LU, MK, MD, ME, NL, NO, PL, RO, RS, RU, SE, SI, SK, UA
Atlantic Central	50,6	24,2	35,8	0,7	69,6	BE, CH, DE, ES, FR, GB, IE, LU, NL
Pannonian	42,1	6,0	43,8	0,1	19,0	AT, BA, BG, CZ, DE, GR, FR, HR, MK, HU, MD, RO, RS, SI, SK, UA
Lusitanian	19,5	13,0	17,2	0,8	52,0	ES, FR, PT
Mediterranean Mountains	54,4	4,9	5,3	0,9	21,9	AL, BA, BG, CH, GR, ES, FR, HR, Mountains IT, MK, HU, ME, PT, SI
Mediterranean North	52,4	4,1	24,2	0,2	19,0	AL, BA, BG, GR, ES, FR, HR, IT, ME, North MK, PT, SI, TR
Mediterranean South	56,7	3,4	11,3	0,3	9,2	AL, ES, FR, GR, IT, MT, PT

Установлено, что в условиях климатических изменений возрастает значимость и совершенствование агротехнических мероприятий, которые используются на

лугопастбищных угодьях: период подготовки и обработки почвы, модернизация агротехнических мероприятий, модификация и минимизация в использовании удобрений, модификация средств защиты растений, интродукция новых климатоустойчивых культур и сортов, развитие технологий сохранения почвенной влаги, защита почвы от разных видов эрозии, оперативный мониторинг заболеваний растений и использование пестицидов, агрометеорологическое прогнозирование в течение сезона, использование страхования культур. В связи с этим проведение комплексных исследований по определению лимитирующих факторов формирования продуктивности лугопастбищных травостоев и значимости используемых агротехнических мероприятий в зависимости от климатических факторов способствуют рациональному использованию и устойчивому развитию лугопастбищных угодий в разных агроклиматических зонах.

В настоящее время ученые разных стран констатируют, что в северных и северо-западных регионах Европы улучшаются климатические условия и увеличивается продуктивность лугопастбищных угодий, а в южных регионах происходит снижение показателей урожайности многолетних кормовых культур. Наиболее четко данные изменения проявляются в контексте сравнения показателей различных агроклиматических зон и на региональном уровне. Производство лугопастбищной продукции оказывается невыгодным из-за отсутствия систем орошения. Следовательно, возможно предположить будущую реструктуризацию сельскохозяйственных земель, которая повлечет за собой изменение структуры производства сельскохозяйственной продукции, а также рынка сбыта и потребления продуктов питания. Все это, в свою очередь, предполагает вариабельность ценовой политики и изменение экономических приоритетов в разных странах.

В этих условиях становится актуальным использование лугопастбищных угодий для развития экологического туризма, и в частности агротуризма. Агротуризм – одно из перспективных направлений мировой туристической индустрии и важная сфера современной экономики. Его активное развитие происходит в период снижения экономической роли сельского хозяйства и необходимости его диверсификации. Урбанизация, рост безработицы и снижение доходов в сельской местности способствуют снижению ее привлекательности и сокращению численности сельского населения. Одновременно нарастает техногенный и психологический прессинг, сопутствующие жизнедеятельности человека в урбоэкосистеме. Все эти факторы делают особенно привлекательным «отдых на природе» и способствуют развитию экологического туризма. В 1995 г. 12 стран Евросоюза насчитывали более 100 тысяч фермерских хозяйств, оказывающих туристические услуги, при этом агротуризм обеспечивал 10–20% дохода всей туристической деятельности, а более 23% туристов отдавали предпочтение сельской местности (Parente, Bovolenta, 2012).

Активизация развития агротуризма в последние годы происходит во всех странах мира. Агротуризм решает не только экономические проблемы. Услуги агротуризма позволяют ознакомиться с природно-ресурсным потенциалом страны или региона, что способствует экологизации сознания населения. Данный вид деятельности отвечает требованиям рационального использования природных ресурсов и содействуют сохранению биоразнообразия в отдельных странах и в целом на планете.

В последние годы внимание мирового сообщества концентрируется на решении продовольственных проблем. Вопросы качества жизни человека приобретают особую остроту и актуальность. Установлено, что состояние здоровья человека определяют разные показатели: качество продуктов питания, погодно-климатические условия, состояние окружающей среды и др. В связи с этим приоритетной становится и проблема качества кормов, т. к. рацион животных опосредованно оказывает воздействие на здоровье и качество жизни людей, потребляющих молочную и мясную продукцию. На протяжении многих десятилетий традиционными были исследования

биохимического состава и питательной ценности кормовых растений, при этом определялось содержание в них протеина, жира, клетчатки, золы, БЭВ, Са, Р, К, Са: Р и микроэлементов. В связи с выяснением негативного воздействия на живые организмы тяжелых металлов актуализировались исследования по их содержанию в различных продуктах и кормах. К настоящему времени увеличился спектр определяемых показателей качественных характеристик корма (Koivisto, Manley, 2003) за счет использования современных методов и расширения приборной базы (NIRS – Near infrared spectroscopy). Сегодня необходимы новые знания о содержании в растениях различных видов клетчатки (кислотно-детергентная – ADF, нейтрально-детергентная – NDF, гемицеллюлоза, лигнин) и углеводов (общие неструктурные – TNS, водорастворимые – WSC), а также фенолов и танинов. От содержания данных веществ напрямую зависит переваримость и усвояемость корма, и в частности основного компонента – протеина, которые способствуют повышению продуктивности животных, улучшению качества продукции и эффективному использованию кормов при экономии затрат на единицу произведенной продукции.

В настоящее время внимание исследователей направлено на определение содержания в кормах насыщенных (SFA) и полиненасыщенных жирных (PUFA) кислот (Omega-3, Omega-6), а также их соотношения и наличия конъюгированной линолевой кислоты, которые являются активными антиоксидантами. В комплексе жирных кислот ученые определяют концентрацию пальмитиновой (palmitic – C16:0), стеариновой (stearic – C18:0), олеиновой (oleic – C18:1), линолевой (linoleic – C18:2) и линоленовой (linolenic – C18:3) кислот.

Концентрация данных веществ в зеленой массе растений и различных видах кормов (сенаж, сено, силос, концентраты) и – как следствие – их содержание в организме питающегося данными кормами животного напрямую влияют на качество жизни человека, употребляющего в пищу сельскохозяйственную продукцию. Подтверждением вышесказанному являются результаты исследований (Wyss, Collomb, 2011), проведенных на стандартном травостое, который включал 62% злаковых растений (доминант – *Lolium perenne* L.) и 36% клеверов (*Trifolium pratense* L. и *Trifolium repens* L.). В эксперименте исследовали сено, концентраты, зеленую массу, силос в двух вариантах (силос А – содержание сухого вещества – 39%, силос В – содержание сухого вещества – 57%). Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2. Химический состав в зависимости от вида корма (г/кг)

Химический состав	Вид корма				
	Сено	Концентраты	Зеленая масса	Силос А	Силос В
Сухое вещество	880	877	168	375	534
Зола	99	48	76	90	87
Сырой протеин	147	120	124	152	137
Сырая клетчатка	282	28	196	236	234
Сахар	92	44	140	62	136
Жир	23	24	27	26	18
C16:0	1,88	3,39	1,69	2,42	2,23
C18:0	0,18	0,36	0,15	0,20	0,20
C18:1	0,33	4,63	0,27	0,40	0,34
C18:2	1,84	13,64	2,14	2,79	2,54
C18:3	5,84	0,79	9,67	11,46	10,18

Анализ данных таблице 2 свидетельствует о широком диапазоне variability исследуемых показателей качества в зависимости от вида корма, а, следовательно, их концентрации в организме животного и производимой продукции. Практическая значимость исследований в данном направлении подтверждается результатами многих экспериментов, проведенных в различных странах. Установлена различная степень корреляции между видом корма, используемой агротехнической системы возделывания растений и качественными характеристиками (Pötsch et al., 2011; Salcedo, 2011). Тщательное и подробное исследование содержания вышеуказанных органических и минеральных веществ в кормах позволяет определить их эффективность и воздействие на жизненно важные процессы у растений, животных и человека, а также обеспечивает получение информации для решения вопросов составления сбалансированных по питательности рационов животных и формирования высокопродуктивных травостоев.

Наличие достаточно больших территорий природных и сеяных кормовых угодий, разнообразие естественной травянистой растительности и широкий спектр ее изученности обуславливают проблему повышения продуктивности лугопастбищных угодий в различных агроклиматических зонах. В каждой стране существует определенный набор видов и сортов лугопастбищных растений, соответствующих агроклиматическим условиям их возделывания. Современные экономические условия и климатические изменения предъявляют новые требования к развитию сельскохозяйственного производства: внедрение новых технологий должно обеспечивать рост продуктивности возделываемых культур в условиях экономии материально-энергетических затрат и природных ресурсов (Grassland and Land Use System..., 1996).

Аналитический обзор результатов научных исследований, проведенных в области изучения и использования биологического разнообразия мировой флоры и опубликованных в материалах симпозиумов и генеральных собраний Европейской Федерации лугопастбищного хозяйства, свидетельствует, что для снижения затрат при производстве кормов на лугопастбищных угодьях применяют различные ресурсосберегающие технологии. На пастбищах и сенокосах используют в основном травосмеси с участием видов бобовых растений. В состав травосмеси включают от двух до четырех видов. В зависимости от целевого назначения травостоя, травосмесь может содержать два вида растений, каждый из которых включает 2–3 сорта, различающихся по срокам созревания, либо одновременно созревающих, но обладающих специфическими морфологическими, биологическими и качественными характеристиками.

Широкое распространение данных технологий приемов свидетельствует о сокращении видового разнообразия лугопастбищных травосмесей и расширении ассортимента используемых культур. Что показывает, насколько большое внимание уделяется селекционной практике во всем мире. (Ecological Aspects of Grassland Management..., 1998; Multi-function grasslands..., 2002).

Бобовые используются на лугопастбищных угодьях в целях экономии азотных удобрений, а в смеси со злаковыми культурами – для повышения плодородия почвы и защиты ее от разных видов эрозии (водной, дефляции). На долготлетних сеяных, и в большей мере на естественных лугах и пастбищах, значительное внимание уделяется сохранению дернового покрова и улучшению его ботанического состава путем проведения подсева различных видов трав в дернину без использования оборота пласта. В большинстве случаев для улучшения ботанического состава травостоя и качества корма используют бобовые растения, но в специфических агроклиматических условиях применяют злаковые травы (ксерофиты, гигрофиты, галофиты) или растения других семейств (Permanent and Temporary Grassland, 2007; Biodiversity and Animal Feed..., 2008).

Многолетние кормовые растения на сенокосах и пастбищах являются основным источником корма для животных, а растения природных кормовых угодий в большинстве случаев используются в качестве дополнительного источника. При ограниченности материальных и энергетических ресурсов, узкого спектра биоразнообразия, определенного климатическими условиями, большое внимание уделяется расширению видового ассортимента культурных растений и использованию потенциала местной флоры. По мнению многих исследователей, травостой, включающие растения из разных хозяйственно-ботанических групп, обеспечивают более высокий уровень качества корма. Присутствие на естественных кормовых угодьях разных видов разнотравья, часто обладающих специфическими лекарственными свойствами, является важным фактором для жизнеобеспечения животных. Кроме того, в настоящее время большое внимание уделяется органической системе хозяйствования, в условиях которой важным аспектом является сохранение биоразнообразия на лугах и пастбищах (Kota et al., 1996; Falkowski et al., 1994; Trzasko, 1994; Soegaard et al., 2008; Palmborg, Huss-Danell, 2008; Tremetsberger, Pötsch, 2011).

Таблица 3. Исследуемые и практически используемые растения на лугах и пастбищах в различных странах (Permanent and Temporary Grassland..., 2007; Biodiversity and Animal Feed..., 2008; Grassland Farming and Land Management..., 2011)

Климатическая зона/ Страна	Исследуемые и используемые растения		
	<i>Fabaceae</i>	<i>Poaceae</i>	Другие семейства
Alpine North – Boreal – Nemoral			
Norway	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Lolium multiflorum</i> Lam., <i>Festulolium</i> , <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Agrostis capillaris</i> L., <i>Anthoxanthum odoratum</i> L., <i>Nardus stricta</i> L., <i>Deschampsia cespitosa</i> (L) Beauv.	<i>Salix</i> L., <i>Geranium sylvaticum</i> L., <i>Vaccinium myrtillus</i> L., <i>Empetrum nigrum</i> L.
Sweden	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Medicago sativa</i> L., <i>Trifolium hybridum</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Lolium multiflorum</i> Lam., <i>Phleum pratense</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Phalaris arundinacea</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Nardus stricta</i> L., <i>Deschampsia cespitosa</i> (L) Beauv.	<i>Leucanthemum vulgare</i> (L.) Lam., <i>Primula veris</i> L., <i>Juncus effusus</i> L., <i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim, <i>Achillea millefolium</i> L.,
Finland	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Phleum pratense</i> L., <i>Phalaroides arundinacea</i> (L.) Rausch., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Bromus inermis</i> (Leyss.) Holub., <i>Poa pratensis</i> L.	
Russia	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium hybridum</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Phleum pratense</i> L., <i>Phalaroides arundinacea</i> (L.) Rausch., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Bromus inermis</i> (Leyss.) Holub., <i>Alopecurus pratensis</i> L.	
Estonia	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Phleum pratense</i> L., <i>Lolium perenne</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Festuca rubra</i> L.	
Latvia	<i>Galega orientalis</i> Lam., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Festulolium</i> , <i>Lolium × boucheanum</i> <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Lolium perenne</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Festuca rubra</i> L.	

Климатическая зона/ Страна	Исследуемые и используемые растения		
	<i>Fabaceae</i>	<i>Poaceae</i>	Другие семейства
Lithuania	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Medicago sativa</i> L., <i>Lupinus polyphyllus</i> , <i>Galega orientalis</i> Lam., <i>Melilotus officinalis</i> Desr.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Phalaris arundinacea</i> L., <i>Festulolium</i> .	
Poland	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Lolium multiflorum</i> Lam., <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Poa trivialis</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Festuca ovina</i> L., <i>Alopecurus pratense</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Agrostis capillaries</i> L., <i>Agropiron repens</i> L., <i>Arrhenatheretum elatius</i> (L) M.et K.	<i>Tilia cordata</i> Miller.
Nemoral – Atlantic North			
Ireland, England	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium ambiguum</i> M. Bieb.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Cynosurus cristatus</i> L., <i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hill, <i>Molinia caerulea</i> (L.) Moench
Germany, England	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium ambiguum</i> M. Bieb.	<i>Lolium perenne</i> L. <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Poa trivialis</i> L., <i>Phalaris arundinacea</i> L.	<i>Senecio jacobaea</i> L., (<i>Salix</i> spp.)
Denmark	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Medicago sativa</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Onobrychis vicifolia</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Festulolium</i> , <i>Phleum pratense</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Poa trivialis</i> L., <i>Phalaris arundinacea</i> L.	<i>Plantago lanceolata</i> L. <i>Carum carvi</i> L. <i>Juncus effusus</i> L.
Austria	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Medicago sativa</i> L., <i>Vicia sativa</i> L., <i>Vicia cracca</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Trisetum</i> Pers., <i>Festulolium</i> , <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Agrostis capillaris</i> L., <i>Bromus inermis</i> (Leyss.) Holub., <i>Bromus erectus</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Poa angustifoli</i> L., <i>Poa compressa</i> L.,	<i>Taraxacum officinale</i> L., <i>Carum carvi</i> L., <i>Achillea millefolium</i> L.
The Netherlands	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Medicago sativa</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L.	<i>Cichorium intybus</i> L.
Alpine South – Continental – Atlantic Central – Pannonian – Lusitanian – Mediterranean (Mountains, North, South)			
Belgium	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L.	
Switzerland	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Phleum pratense</i> L., <i>Phedimus stoloniferus</i> (S.G. Gmelin).	

Климатическая зона/ Страна	Исследуемые и используемые растения		
	<i>Fabaceae</i>	<i>Poaceae</i>	Другие семейства
Czech Republic	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Bromus inermis</i> (Leyss.) Holub., <i>Bromus marginatus</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festulolium</i> , (<i>Lolium multiflorum</i> Lam. × <i>Festuca pratensis</i> Huds.), (<i>Lolium multiflorum</i> Lam. × <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.), <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Lolium perenne</i> L., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Elytrigia repens</i> (L.) Desv. ex Nevski).	<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Salisb.
Slovakia	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L.	<i>Festulolium</i> , <i>Lolium perenne</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca pratensis</i> Huds., <i>Phleum pratense</i> L.	
Serbia	<i>Medicago sativa</i> L., <i>Lathyrus aphaca</i> L., <i>Lathyrus cicera</i> L., <i>Lathyrus ochrus</i> (L.) DC., <i>Lathyrus sativus</i> L., <i>Vavilovia formosa</i> (Stev.) Fed), <i>Vicia villosa</i> Roth., <i>Vicia sativa</i> L., <i>Vicia pannonica</i> Crantz.	<i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Bromus Benekeni</i> (Lge) Trimen.	<i>Fagus sylvatica</i> L., <i>Rubus sanctus</i> L., <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Gled.
France	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Trifolium hybridum</i> L., <i>Trifolium repens</i> L., <i>Medicago sativa</i> L.,	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Elymus repens</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Poa pratensis</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	<i>Carex divisa</i> Huds., <i>Juncus articulatus</i> L., <i>Juncus gerardi</i> Lois.
Italy	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium hybridum</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L., <i>Hedysarum coronarium</i> L., <i>Medicago sativa</i> L.	Italian ryegrass L., <i>Lolium perenne</i> L., <i>Bromus inermis</i> (Leyss.) Holub., <i>Bromus erectus</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Festuca ovina</i> L., <i>Phalaris aquatica</i> L., <i>Brachypodium pinnatum</i> (L.) P.B., <i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	<i>Veratrum album</i> L.
Spain	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Lolium multiflorum</i> Lam. ssp. <i>alternativum</i> , <i>Agrostis capillaries</i> L., <i>Bromus erectus</i> L., <i>Poa trivialis</i> L.	<i>Pinus radiata</i> D.
Portugal	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium subterraneum</i> L.	<i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Lolium perenne</i> L.	<i>Betula alba</i> L.
Hungary		<i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Bromus inermis</i> L., <i>Alopecurus pratensis</i> L., <i>Festuca pseudovina</i> , <i>Poa pratensis</i> L.	
Romania	<i>Trifolium pratense</i> L., <i>Trifolium repens</i> L., <i>Lotus corniculatus</i> L.	<i>Nardus stricta</i> L., <i>Agrostis capillaris</i> L., <i>Festuca rubra</i> L., <i>Festuca valesiaca</i> L.	
Bulgaria	<i>Trifolium repens</i> L., <i>Ornithopus sativus</i> L., <i>Medicago sativa</i> L.	<i>Lolium perenne</i> L., <i>Dactylis glomerata</i> L., <i>Agropyron cristatum</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> Schreb., <i>Bromus inermis</i> L., <i>Agropyron desertorum</i> Fisch Schult.	

Анализ и систематизация научного материала в области исследований и использования биологического разнообразия мировой флоры в лугопастбищном хозяйстве различных стран позволили сделать вывод, что за последние 10–15 лет активно продолжается работа по поиску новых кормовых растений с высоким адаптивным потенциалом, способных обеспечивать высокие показатели продуктивности и устойчивости в нестандартных агроклиматических условиях, характеризующихся резкими перепадами температур или осадков, а также дефицитом или избытком влаги (Graiss et al., 2011).

Анализ представленных данных (табл. 3) свидетельствует, что в разных странах исследуются и используются в практике в основном 60–75 видов растений из разных хозяйственно-ботанических групп. При этом более 30 видов относятся к злаковым, а 15 – к бобовым, которые различаются по агроклиматическому потенциалу, продуктивности и кормовой ценности. Необходимо отметить, что в группе бобовых трав наибольшее распространение имеют *Trifolium pratense* L. и *Trifolium repens* L., а среди злаковых растений доминируют *Lolium perenne* L., *Phleum pratense* L., *Dactylis glomerata* L., *Festuca pratensis* Huds. Широкое распространение получили разные гибриды *Festulolium*, созданные на основе генетического материала райграса и овсяниц. В исследованиях все больше внимания уделяется диким популяциям разных видов лугопастбищных растений. Проводится детальный анализ природных сообществ, который необходим для проведения в последующем селекционной работы и интродукции, а также для сохранения биоразнообразия в целях рационального природопользования.

Основной целевой функцией возделывания многолетних трав на лугопастбищных угодьях является производство кормов. Кроме того, растения сенокосов и пастбищ, являясь основой функционирования ландшафтов, обеспечивают их устойчивость к изменениям климата и воздействию негативных факторов, осуществляя средообразующую и природоохранную функцию. Травянистая растительность обеспечивает системообразующую функцию в природных экосистемах и способствует предотвращению деградации почв от разных видов эрозии, сохраняя плодородие земель, что входит в показатели продовольственной безопасности любого государства.

Эколого-экономические проблемы мирового сообщества и многофункциональность сельского хозяйства способствуют развитию традиционных и появлению новых научно-практических направлений в сфере производства кормов и продуктов питания.

Увеличение народонаселения на планете, сокращение разведанных запасов первичных энергетических ресурсов, изменение климата, влияющее на состояние окружающей среды, определяют новые пути получения и использования энергетических ресурсов при снижении негативного воздействия на биосферу. В связи с этим большое значение в наше время приобретают альтернативные энергетические ресурсы, и в частности биоэнергетические культуры, произрастающие на сельскохозяйственных землях. Сейчас на сельскохозяйственных землях во многих странах существует конкуренция между производством сельскохозяйственной растениеводческой продукции (продукты питания, корма) и получением биомассы на энергетические цели, так как использование пахотных земель ограничено существующей структурой земельных угодий. Это вызывает необходимость привлечения новых земель, и в частности лугопастбищных угодий, которые играют ключевую роль в сельскохозяйственном производстве и экологических аспектах (Multi-function grasslands..., 2002; Permanent and Temporary Grassland..., 2007).

Согласно расчетам, в странах Европейского Союза теоретический потенциал лугопастбищных угодий для производства энергетических культур составляет от 9 до 15 млн га, что составляет 13–22% территории. Производство биоэнергетических

культур актуально и перспективно, однако при этом необходимо нивелировать конкуренцию с другими культурами. Сохранение баланса между потребностями в энергетических ресурсах и возможностями сельскохозяйственного производства позволит оптимизировать процесс выращивания и использования биомассы в энергетических целях.

Существует две группы культур, которые относят к первому и второму поколениям растений, используемых на энергетические цели (агротопливо). Сельскохозяйственные культуры первой группы выращиваются в чистом виде на плодородных пахотных почвах. Они подходят для производства биоэтанола из крахмала или сахара зерна кукурузы, пшеницы, ячменя, тритикале, сахарного тростника, сахарной свеклы или используются для получения биодизеля (экстрагирование масла из семян рапса и сои, а также пальмовое масло). Ко второй группе относятся растения с высоким содержанием целлюлозы и лигнина: однолетние культуры; многолетние травы, произрастающие в одновидовых посевах и травосмесях на культурных и естественных лугопастбищных угодьях (злаковые, бобовые, разнотравье). В последние годы большое внимание уделяется производству и использованию интенсивно развивающихся древесных растений (разные виды тополя и ивы), выращиваемых для получения энергетических ресурсов на сельскохозяйственных землях (Biodiversity and Animal Feed..., 2008; Grassland Farming and Land Management..., 2011).

В настоящее время существуют два основных направления в использовании биомассы с лугопастбищных угодий для энергетических целей: анаэробная ферментация (производство биогаза) и термальная обработка (сжигание сена). Однако эти методы имеют свои преимущества и недостатки. Сжигание биомассы осложняет высокое содержание минеральных веществ. Травы, накапливающие большое количество сырого азота, серы, хлора, калия, усложняют процесс сжигания биомассы: происходит задержка массы в реакторе; возможно проявление коррозии металла; происходит образование оксидов азота (парниковый газ).

Результаты исследований, проведенных в агроклиматических условиях Северо-Запада России (Кулаковская, 2011), свидетельствуют о широком диапазоне показателей, характеризующих биохимический состав растений различных ботанических групп в фазу начала цветения (табл. 4).

Таблица 4. Качественная характеристика растений в зависимости от видового состава

Растения	Сырой протеин г/кг с.в.	Сырая клетчатка г/кг с.в.	Са г/кг с.в.	Р г/кг с.в.	К г/кг с.в.	Cu мг/кг с.в.	Zn мг/кг с.в.	Fe мг/кг с.в.	Mn мг/кг с.в.
<i>Poaceae</i>									
Минимум	109,0	228,0	3,0	1,8	19,1	4,3	25,1	82,4	37,4
Максимум	133,0	303,0	5,5	3,7	32,2	6,5	30,1	182,5	60,3
<i>Fabaceae</i>									
Минимум	147,0	202,0	11,0	2,5	18,2	1,3	14,2	55,6	31,1
Максимум	211,0	255,0	18,3	4,1	26,3	6,5	44,4	119,8	49,2
Разнотравье									
Минимум	–	–	11,6	2,7	38,4	5,1	30,7	70,4	34,3
Максимум	–	–	28,4	4,4	53,1	6,3	34,6	175,0	71,2

Злаковые травы характеризуются наибольшими показателями сырой клетчатки, а бобовые – наличием сырого протеина. Максимум содержания минеральных элементов определен в разнотравье. Результаты подтверждают выводы ученых: видовой состав растений определяет содержание органических и минеральных веществ, которые в разной степени воздействуют на процесс сжигания фитомассы в

энергетических целях. Однако при раннем скашивании трав содержание этих элементов уменьшается.

Процесс анаэробной ферментации биомассы растений, используемых для производства биогаза, проходит с осложнениями из-за высокого содержания лигнина, увеличивающего время присутствия биомассы в реакторе. А биомасса растений, полученная при экстенсивной системе ведения лугопастбищного хозяйства, характеризуется как раз высоким содержанием лигнина. Производство биогаза и сбор метана с лугопастбищных угодьев определяют различные факторы: фенологическая фаза растений и их видовой состав, интенсивность использования травостоя и система управления, способ и метод консервирования (использование инокулянтов). В этой ситуации необходимо определять влияние каждого из перечисленных факторов и тщательно изучать процессы оптимизации производства биогаза из биомассы. В условиях проведения первого укоса на зеленую массу получены результаты, подтверждающие влияние видового состава травостоя на производство метана (1N 1 кг с. в.): *Festuca rubra* L. (456), *Festuca pratensis* Huds. (401), *Lolium perenne* L. (398), *Dactylis glomerata* L. (366), *Phleum pratense* L. (366), *Alopecurus pratensis* L. (338), *Festuca arundinacea* (Hack.) Tzvel (329). В процессе проведения исследований установили, что увеличение содержания сырой клетчатки сдерживает потенциал максимального производства биогаза. Это связано с тем, что содержание сырой клетчатки зависит от содержания гемицеллюлозы и лигнина, которые с трудом подвергаются биоразложению в анаэробных условиях (Biodiversity and Animal Feed..., 2008, Grassland Farming and Land Management..., 2011).

В условиях Северо-Запада России проведены исследования растений (фаза начала цветения), принадлежащих к разным ботаническим группам (бобовые, злаковые, разнотравье). В биомассе определяли: содержание нейтрально-детергентной клетчатки (NDF), кислотно-детергентной клетчатки (ADF) и кислотно-детергентного лигнина (ADL). Гемицеллюлозу (HC) определяли расчетным методом. Аналитическая работа была выполнена в университете г. Дебрецен (Венгрия) с использованием метода NIRS. Результаты представлены в таблице 5.

Диапазон колебаний содержания нейтрально-детергентной клетчатки, кислотно-детергентной клетчатки и кислотно-детергентного лигнина в растениях характеризуется широкой амплитудой варибельности как в пределах семейства, так и при сравнении разных ботанических групп, что подтверждает наличие видовой специфики и разные потенциальные возможности биомассы для производства агротоплива.

Научно-исследовательские работы в области производства биомассы на энергетические цели способствовали разработке и реализации проектов в данной сфере. С 2003 года в Швеции работает демонстрационный Европейский проект внутри программы AGROPTI-gas для производства растений, продуцирующих биогаз (Biodiversity and Animal Feed..., 2008). В соответствии с планом проекта для производства биогаза используются: сепарированные органические отходы ферм (домашних хозяйств); сточные осадки; продукция биомассы с лугопастбищных угодий. Вся собранная масса подвергается брожению и образуется биогаз, который служит для получения электричества, тепла и транспортного топлива. В разных странах активно развиваются направления по поиску и применению различных видов растительного сырья для увеличения производимого биогаза, электрической и тепловой энергии.

Дальнейшее развитие производства биоэнергетических культур на сельскохозяйственных землях будет основано на применении энергоэффективных и экономически целесообразных технологий. Ученые рекомендуют в процессе проведения научно-практических исследований обязательно учитывать и сохранять баланс между производством биоэнергетических ресурсов и эмиссией парниковых газов (CO₂, CH₄, N₂O) в окружающую среду при использовании разных систем

производства сельскохозяйственной продукции. По мнению исследователей, сельское хозяйство вносит значительный вклад в климатические изменения на планете. Производство животноводческой продукции является одним из основных источников эмиссии CH_4 , N_2O , NH_3 в атмосферу и составляет от 40 до 80% антропогенных выбросов (20–30% эмиссии в сельском хозяйстве). Моделирование разных ситуаций в агроэкосистемах позволяет разработать многочисленные сценарии перспектив их развития для оценки эффекта взаимодействия между системой управления хозяйства, климатическими и почвенными факторами (потери N, P, C) и рентабельностью сельскохозяйственного производства. Это позволяет установить разные уровни воздействия производства сельскохозяйственной продукции на состояние окружающей среды (Tom Misselbrook et al., 2012). В различных агроклиматических условиях необходимо проведение экспериментов, включающих комплексные исследования процессов усвоения и эмиссии углерода растениями и почвой на протяжении всего жизненного цикла с учетом вертикальной и горизонтальной миграции.

Развитие стратегии по изучению биоразнообразия расширит спектр использования сельскохозяйственных растений и биоэнергетических культур. Совершенствование процесса интеграции разных систем земледелия и менеджмента на лугопастбищных угодьях способствует сохранению биоразнообразия и решению эколого-экономических проблем, что отвечает требованиям рационального использования природных ресурсов.

Таблица 5. Фракционный состав клетчатки в различных травах, г / кг
(Кулаковская et al., 2003, Кулаковская, 2012)

Растение	NDF	ADF	HC	ADL
<i>Poaceae</i>				
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	572	320	252	20
<i>Dactylis glomerata</i> L.	572	330	242	27
<i>Poa pratensis</i> L.	568	308	260	12
<i>Bromopsis inermis</i> (Leys.) Holub.	577	343	234	18
<i>Festuca pratensis</i> Huds	630	360	270	21
<i>Phalaroides arundinacea</i> Rausch.	583	288	295	29
<i>Phleum pratense</i> L.	680	352	328	16
<i>Fabaceae</i>				
<i>Trifolium pratense</i> L.	344	262	82	25
<i>Trifolium hybridum</i> L.	249	199	50	15
<i>Trifolium repens</i> L.	313	230	83	7
<i>Galega orientalis</i> Lam.	423	292	131	24
<i>Lathyrus pratensis</i> L.	355	277	78	16
Разнотравье				
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.	171	149	22	6
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	329	261	68	21
<i>Achillea millefolium</i> L.	348	267	81	17
<i>Achillea ptarmica</i> L.	380	263	117	22

Заключение

Сравнительный анализ площадей лугопастбищных угодий в разных странах европейской части континента показывает, что статистические показатели варьируют в пределах 36–41% от площади сельскохозяйственных угодий, однако максимальные их площади сосредоточены в тех климатических зонах, где имеют место наиболее высокие показатели продуктивности.

Результаты исследований, проведенных в разных странах, свидетельствуют об усилении воздействия климатических изменений на показатели продуктивности лугопастбищных угодий. Проведение комплексных исследований по определению лимитирующих факторов, влияющих на формирование продуктивности лугопастбищных травостоев, и значимости используемых агротехнических мероприятий в зависимости от климатических факторов, способствуют рациональному использованию и устойчивому развитию лугопастбищных угодий в разных агроклиматических зонах.

При наличии обширных территорий природных и сеяных кормовых угодий, а также широкого спектра разнообразия естественной травянистой растительности и высокой степени ее изученности в различных агроклиматических условиях существуют проблемы повышения продуктивности лугопастбищных угодий. В каждой из стран существует определенный набор видов и сортов лугопастбищных растений, соответствующих агроклиматическим условиям их возделывания. Современные экономические условия и климатические изменения предъявляют новые требования к разработке и внедрению сельскохозяйственных технологий, обеспечивающих рост продуктивности возделываемых культур в условиях экономии материально-энергетических затрат и природных ресурсов.

В современных условиях актуально использование лугопастбищных угодий для развития экологического туризма, и в частности агротуризма, который является важной сферой экономики в период диверсификации сельского хозяйства. Совершенствование данного вида деятельности отвечает требованиям рационального использования природных ресурсов и способствует сохранению биоразнообразия в отдельных странах и в целом на планете.

Вопросы качества жизни человека определяют различные факторы, однако качество продуктов питания и состояние окружающей среды остаются приоритетными, что способствует более углубленному изучению биохимических показателей растений, кормов и сельскохозяйственной продукции, а также совершенствованию методической и приборной базы. В программы исследований необходимо включать изучение содержания различных видов клетчатки, углеводов, фенолов, танинов, насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, что способствует повышению качества кормов, продуктивности животных и улучшению качества животноводческой продукции, а также более эффективному использованию кормов при экономии затрат на единицу произведенной продукции.

В различных странах исследуются и используются на практике в основном 60 – 75 видов растений из разных хозяйственно-ботанических групп. *Trifolium pratense* L., *Trifolium repens* L., *Lolium perenne* L., *Phleum pratense* L., *Dactylis glomerata* L., *Festuca pratensis* Huds. доминируют в травостоях практически во всех странах. Широкое распространение получили разные гибриды *Festulolium*, созданные на основе генетического материала райграса и овсяниц. В исследованиях все больше внимания обращается на дикие популяции разных видов лугопастбищных растений с целью проведения селекционной работы и интродукции, а также для сохранения биоразнообразия. В последние десятилетия активно продолжается работа по поиску новых кормовых растений с высоким адаптивным потенциалом, способных обеспечивать высокие показатели продуктивности и устойчивости в нестандартных

агроклиматических условиях, характеризующихся резкими перепадами температур или осадков, а также дефицитом или избытком влаги.

Эколого-экономические проблемы мирового сообщества и многофункциональность сельского хозяйства способствуют развитию традиционных и появлению новых научно-практических направлений в сфере использования лугопастбищных угодий. В настоящее время на лугопастбищных угодьях во многих странах существует конкуренция между производством сельскохозяйственной продукции и получением биомассы на энергетические цели. Сохранение баланса между потребностями в энергетических ресурсах и возможностями сельскохозяйственного производства позволит оптимизировать процесс выращивания и использования биомассы в энергетических целях. Развитие стратегии по изучению биоразнообразия расширит спектр использования биоэнергетических культур, а углубленное исследование их химического состава и совершенствование технологических процессов выращивания позволят определить и повысить потенциальные возможности биомассы для энергетических целей.

В различных агроклиматических условиях необходимо проведение экспериментов по исследованию процессов усвоения и эмиссии углерода растениями и почвой на протяжении всего жизненного цикла с учетом вертикальной и горизонтальной миграции для нивелирования климатических изменений на планете.

Литература

- Земельный фонд* Российской Федерации на 1 января 2001 года. Росземкадастр. ФКЦ «Земля». М.: АО «Экос», 2001. 112 с.
- Кулаковская Т. В. Традиционные, малораспространенные, дикорастущие многолетние растения и качество корма // Міжвідомчий тематичний науковий збірник. «Корми і кормовиробництво». Вінниця, 2011. № 68. С. 120–126.
- Кулаковская Т. В., Vinczeffi I., Kota M., Kovacs B. Сравнительная оценка питательной ценности растений в различных условиях местообитания и использования // Мелиорация переувлажненных земель: сб. науч. трудов. Минск: БелНИИМиЛ., 2003. Т. 50. С. 201–207.
- Лепкович И. П. Современное луговое хозяйство. СПб.: ПРОФИ-ИНФОРМ, 2005. 424 с.
- Тюльдюков В. А., Андреев Н. Г., Воронков В. А. и др. Луговое хозяйство. М.: Колос, 1995. 415 с.
- Четвертый национальный доклад Республики Беларусь «Конвенция о биологическом разнообразии». 2009. <http://www.minpriroda.by>.
- Biodiversity and Animal Feed Future Challenges for Grassland Production. Proceeding of the 22 th General Meeting of the European Grassland Federation Uppsala. Sweden 9-12 June. 2008 / Edited by A. Hopkins, T. Gustafsson, J. Bertilsson, G. Dalin, N. Nilsdotter-Linde, E. Spörndly SLU Repro Uppsala. 2008. V. 13. 1032 p.
- Ecological Aspects of Grassland Management. Proceeding of the 17th General Meeting of the European Grassland Federation Debrecen Agricultural University. Debrecen. Hungary. May 18-21. 1998 / Edited by G. Nagy, K. Peto. 1998. V. 3. 1033 p.
- EUROSTAT (2010). Agricultural Statistics. Main results 2008–2009. Eurostat pocketbooks collection. <http://ec.europa.eu/Eurostat>.
- Falkowski M., Kozłowski S., Kukulka J. Herbal meadows – a source of feed and an element of environmental protection // Grassland and Society 15th EGF. 1994. P. 302–305.
- Graiss W., Krautzer B. and Pötsch E. M. Suitability of alternative grass species for grassland management in Austria under changing climatic conditions // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 440–442.
- Grassland and Land Use System. Proceeding of the 16th General Meeting of the European Grassland Federation Grado (Gorizia). Italy. September 15-19. 1996. / Edited by G. Parente, J. Frame, S. Orsi. 1996. V. 1. 960 p.
- Grassland Farming and Land Management Systems in Mountainous Regions. Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation Gumpenstein, Austria August 29th – August 31st 2011 / Edited by Erich M. Pötsch, Bernhard Krautzer, Alan Hopkins, Walling Ennstaller Druckerei und Verlag Ges. m. b. H. Gropfing. 2011. V. 16. 632 p.

- Koivisto J. M., and Manley D.* Comparing the effectiveness of Fibre Bags vs. Fibre Caps for ADF and NDF analysis of forage legumes // Grassland and Society 19th EGF. 2003. P. 210–211.
- Kota M., Benedek A., Yinczeff J., Tomoskozi S.* Grass component herbs as fodder sources // Grassland and Society 16th EGF. 1996. P. 286–289.
- Kulakouskaya T.* Chemical composition and nutritive value of different plant species used for forage production in South Karelia, Russia // Proceeding of the XVI International Silage Conference. Finland. MTT Agrifood Research Finland. University of Helsinki. 2012. P. 182–183.
- Misselbrook Tom, Agustin del Prado and David Chadwik.* Opportunities for reducing environmental emissions from forage-based dairy farms // Proceeding of the XVI International Silage Conference. Finland. MTT Agrifood Research Finland. University of Helsinki. 2012. P. 113–125.
- Multi-function grasslands: quality forages, animal products and landscapes.* Proceeding of the 19 th General Meeting of the European Grassland Federation La Rochelle. France. 27-30 May. 2002 / Edited by Jean-Louis Duband, Jean-Claude Emile. Christian Huyghe. Gilles Lemaire. 2002. V. 7. 1126 p.
- Palmborg C. and Huss-Danell K.* Recovery of fertilizer N in grassland communities of different diversity and composition // Proceeding of the 22th General Meeting of the European Grassland Federation Uppsala. 2008. P. 296–298.
- Parente G. and Bovolenta S.* The role of grassland in rural tourism and recreation in Europe // In: Golinski P., Warda M. and Stypinski P. (ed.) Grassland – a European Resource. Proceedings of the 24th EGF General Meeting. Lublin (PL) 3-7 June 2012. Volume 17. Grassland Science in Europe. P. 733–743.
- Pötsch E. M., Resch R., Wiedner G. and Buchgraber K.* Challenge and problems of forage conservation in mountainous regions of Austria // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 82–84.
- Permanent and Temporary Grassland Plant, Environment and Economy.* Proceeding of the 14 th Symposium of the European Grassland Federation Ghent. Belgium. 3-5 September. 2007/ Edited by A. De Vliegher. L. Carlier. 2007. V.12. 595 p.
- Salcedo G.* Effects of the application of nitrogen on the fatty acid profile of grass in coastal zone meadows in Cantabria (Spain) used for pasture // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 88–90.
- Søegaard K., Eriksen J. and Askegaard M.* Herb in grassland – effect of slurry and grazing/cutting on species composition and nutritive value // Proceeding of the 22th General Meeting of the European Grassland Federation Uppsala. 2008. P. 200–202.
- Tremetsberger L. and Pötsch E. M.* Influence of plant competition on biomass production and nutritive quality of three grassland species – results of a pot experiment // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 193–195.
- Trnka M., Bartošová L., Schaumberger A., Ruget F., Eitzinger J., Formayer H., Seguin B. and Olesen J.E.* Climate change and impact on European grasslands // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 38–51.
- Trzasko M.* The chemical composition of forage herbs and weeds in relation habitat fertilizer application and time of harvesting. Grassland and Society. 15th EGF. 1994. P. 302–305.
- Wyss U. and Collomb M.* Influence of hay or silage on cow-milk fatty acid composition // Proceeding of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. 2011. Gumpenstein. P. 100–102.

ЭЛЕМЕНТЫ КОНСЕРВАТИВНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕЙОЗА У РЖИ *SECALE CEREALE* L., ВЫЯВЛЕННЫЕ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ*

Е. И. Михайлова¹, А. В. Толкачева¹, С. П. Соснихина²

¹Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН,
Санкт-Петербург, Россия, e-mail: Elena.Mikhailova@paloma.spbu.ru

²Кафедра генетики и селекции, Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Изучены ключевые этапы мейоза у ржи, а именно: кластеризация теломерных и центромерных доменов хромосом, события рекомбинации, сборка синаптонемного комплекса (СК). Предложена гипотеза об иерархии связей между ними: кластеризация теломерных и центромерных доменов хромосом, а также правильная конденсация хромосом в ядрах микроспороцитов ржи на стадиях предмейотической интерфазы-профазы I обеспечивают успешное осуществление ранних событий рекомбинации. События, связанные с инициацией и успешностью сборки линейных треков белка синапсиса Asy1, являются определяющими для завершения рекомбинации у ржи, но не для ее инициации. Сборка трехполосой структуры СК также необходима для завершения рекомбинации и обеспечивается белком, отличным от Zyp1, белка центрального пространства СК. Представлено экспериментальное обоснование концепции.

Ключевые слова: рожь, мейоз, рекомбинация, букет, хромосома, белки СК, Asy1, Zyp1.

CONSERVATIVE AND SPECIFIC FEATURES OF MEIOSIS IN RYE (*SECALE CEREALE* L.) REVEALED BY MOLECULAR CYTOGENETIC METHODS

E. I. Mikhailova¹, A. V. Tolkacheva¹, S. P. Sosnikhina²

¹St. Petersburg Branch of N. I. Vavilov Institute of General Genetics RAS

²Department of Genetics and Breeding, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Summary

Key events of meiosis, namely clustering of telomeric and centromeric chromosome domains, recombination events and synaptonemal complex (SC) assembly were studied in rye. A hypothesis establishing hierarchy of links between them has been proposed: telomeres and centromeres clustering, as well as regular condensation of chromosomes in microsporocyte nuclei of rye at the pre-meiotic interphase-Prophase I stages ensure successful accomplishment of early events of recombination. The processes associated with the initiation and proper assembly of linear tracts of synaptonemal complex protein Asy1, are crucial for completion of recombination, though not for its initiation. The setting-up of a tripartite SC structure is also essential for completion of recombination and is implemented by a protein, which is different from Zyp1, the central region protein. The experimental data in support of this concept are presented.

Key words: rye, meiosis, recombination, bouquet, chromosome, SC proteins, Asy1, Zyp 1.

Мейоз является центральным событием жизненного цикла эукариотических организмов, размножающихся половым путем, которое инициирует переход от диплоидной к гаплоидной фазе развития, т. е. создает необходимые предпосылки для образования гамет. Правильность мейоза обеспечивает фертильность и возможность успешного полового воспроизведения. Создание генетических моделей и

*Работа поддержана грантами Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 г. (Соглашение №8045 от 20 июля 2012 г.).

секвенирование геномов привело к выявлению гомологии ключевых генов мейоза у разных видов. Это открытие подтвердило консерватизм отдельных этапов мейоза и позволило осуществлять сравнительные геномные и протеомные исследования у разных организмов (Богданов, 2004; Page, Hawley, 2004).

Эффективность редукции числа хромосом в мейозе обеспечивается попарным объединением гомологов в профазе I и физическими обмeнами между ними. Детали и особенности взаимодействия хромосом удалось охарактеризовать в результате анализа ряда мутаций по генам, контролирующим процессы рекомбинации и синапсиса (Nonomura et al., 2006; Yu et al., 2010). У разных организмов выявлены мутации, вызывающие негомологичный синапсис наряду с гомологичным (Nairz, Klein, 1997), часть из которых затрагивает гены, кодирующие белки синаптонемного комплекса или СК (Higgins et al., 2005). Изучение сходных по проявлению мейотических мутаций у разных видов позволило сформулировать концепцию универсальности генетического контроля мейоза (Zickler, Kleckner, 1999). С другой стороны, в последние десятилетия было показано, что этапы мейоза находятся под независимым генетическим контролем, а полный их спектр не является абсолютно необходимым для успешного осуществления мейоза у каждого конкретного вида. Последовательность событий мейоза может быть также различна. Таким образом, исключительно возросла актуальность всестороннего изучения всех ключевых этапов мейоза у каждого изучаемого вида (Shaw, Moore, 1998; Gerton, Hawley, 2005).

Геном ржи велик и избыточен, поэтому сведения о секвенировании ее генома до настоящего времени достаточно фрагментарны. Составление фенотипических портретов спонтанных мутантов и детальное сравнение их с фенотипами мутантов по известным генам, например дрожжей и арабидопсиса, является продуктивным подходом при изучении генетического контроля отдельных этапов мейоза у ржи (Михайлова и др., 2009, 2010). Такой тип анализа базируется на Законе гомологических рядов в наследственной изменчивости Н. И. Вавилова (Вавилов Н. И., Изд. 1987) и методах обратной геномики и протеомики.

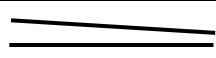
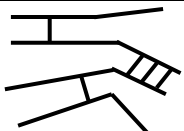
Центральным событием профазы I является рекомбинация на уровне ДНК, которая приводит к образованию хиазм (Zickler, 2006). Параллельно образуется белковая трехполосая структура СК, между гомологичными хромосомами, а также происходит передислокация теломерных и центромерных доменов хромосом. Использование имеющейся в нашем распоряжении уникальной «Петергофской» коллекции синаптических мутантов ржи позволило нам изучить связь дефектов образования СК с рекомбинацией и кластеризацией центромеров и теломеров (Соснихина и др., 2005; Sosnikhina et al., 2005).

Молекулярно-цитогенетическому изучению подвергли три мутанта (табл.), два асинаптика *sy1* и *sy9*, у которых не образуется трехполосая структура СК, и *sy10*, у которого наблюдается синапсис с переключением с гомологичных партнеров на негомологичные (Соснихина и др., 2005; Sosnikhina et al., 2005). Мутант *sy10* похож в этом отношении на десинаптические мутанты кукурузы (Golubovskaya et al., 1997) и лука (Jenkins, Okumus, 1992). Асинапсис приводит к образованию большого количества унивалентов в метафазе I (MI). Индискриминантный синапсис приводит к образованию ассоциаций хромосом и редких бивалентов (Sosnikhina et al., 2005; Михайлова и др., 2009).

Хромосомспецифическое мечение на ржи остается в перспективе, но уже сейчас возможно пометить отдельные домены хромосом (Mikhailova et al., 2001; Schwarzach, 2003). Вступление клеток в мейоз знаменуется образованием двух кластеров, центромерного и теломерного, у растений дикого типа, мутанта *sy9* и у мутанта *sy10* (рис.). У мутанта *sy1* выявлены нарушения обоих кластеров (Mikhailova et al., 2001; Jenkins et al., 2005; Михайлова и др., 2009; 2010). Таким образом, у ржи, как и у пшеницы (Bennett et al., 1973) кластеризация теломерных доменов хромосом

приурочена к переходу от предмейотической интерфазы к мейозу и происходит раньше по сравнению с другими видами (например, кукурузой), у которых она ассоциируется с началом синапсиса (Bass et al., 2003). Более того, формирование «раннего кластера» указанных доменов у ржи не является обязательной предпосылкой регулярного синапсиса, поскольку оно не нарушено ни у асинаптического мутанта *sy9*, ни у десинаптического мутанта *sy10* (Михайлова и др., 2009).

Характеристика изучаемых форм ржи

Генотип	Эффект аллелей	Среднее число унивалантов	Фенотип МІ	Фенотип СК
Дикий тип	Синапсис	0,3	Биваленты	
<i>sy1sy1</i>	Асинапсис	13,9	Униваланты	
<i>sy9sy9</i>	Асинапсис	13,6	Униваланты	
<i>sy10sy10</i>	Синапсис с переключениями	8,0	Ассоциации хромосом, редкие биваленты	

Тесная взаимосвязь образования теломерного кластера и синапсиса хромосом привела к предположению, что букет может способствовать спариванию гомологичных хромосом и физическому обмену между ними (Zickler, Kleckner, 1999).

В соответствии с доминирующей в настоящее время моделью рекомбинации на уровне ДНК процесс запускается в результате образования двуцепочечных разрывов. Эти разрывы производит белок *spo11p*. Затем следует резекция 5' концов и образование липких 3' концов. Следующий этап – это инвазия 3' конца в интактный дуплекс гомологичной хромосомы. Перенос одноцепочечной ДНК от одной двуцепочечной молекулы к другой во время рекомбинации у эукариот осуществляется двумя белками, Rad51 и Dmc1 (Gerton, Hawley, 2005). Из литературы известно, что у мутантов почкующихся дрожжей, дефектных по рекомбинации, нарушена реорганизация букета (Scherthan, 1997). У асинаптического мутанта ржи *sy1* нарушена структура «раннего кластера», а также отсутствует зрелый СК (Mikhailova et al., 2001).

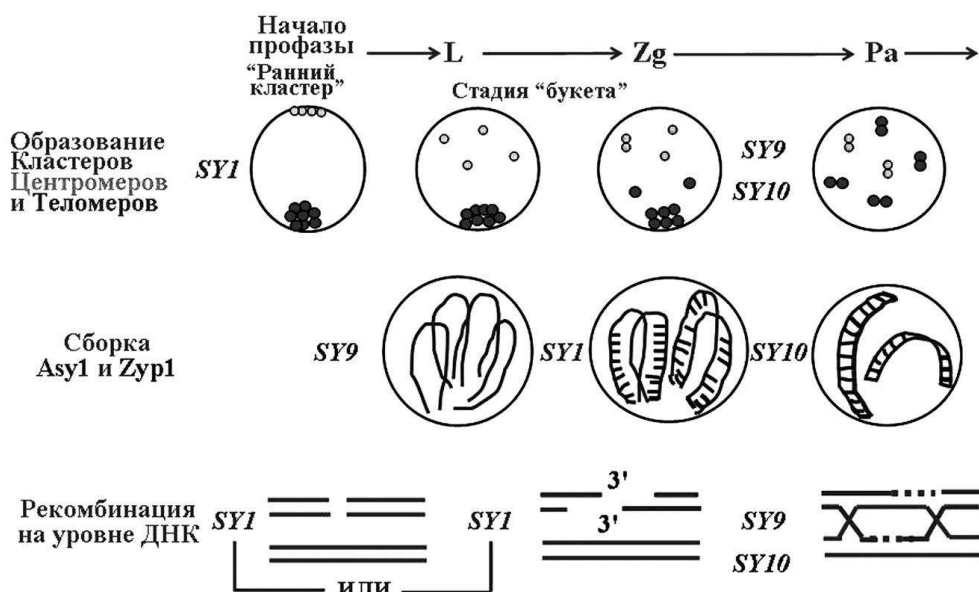
Иммуноцитохимический анализ с помощью антител к белкам Rad51 и Dmc1 показал, что у мутанта *sy1* отсутствуют сигналы (фокусы) этих рекомбиногенных белков. Мы проанализировали последовательности кДНК генов RAD51 и DMC1 у этого мутанта и выявили ошибки сплайсинга на интрон-экзонных границах, инсерцию, делецию, а также сохранение целого интрона, которые должны были привести к отсутствию белка у мутанта либо к образованию его дефектного аналога (Jenkins et al., 2005; Михайлова и др., 2009). Существует мнение, что предпосылкой кроссинговера у высших эукариот является синаптонемный комплекс или СК, однако экспериментально обосновано, что у почкующихся дрожжей синапсис начинается с сайтов двуцепочечных разрывов ДНК (Lynn et al., 2007), т. е. рекомбинация у *Saccharomyces cerevisiae* первична. Мы проверили, какова связь этих событий у ржи.

В соответствии с общепризнанной моделью СК состоит из латеральных элементов, между которыми располагаются димеры белков центрального пространства (Page, Hawley, 2004). Петли хроматина заякорены на латеральных элементах. Компонентом центрального элемента СК у арабидопсиса является белок Zyp1 (Higgins et al., 2005). Asy1 ассоциирован с хроматином в непосредственной близости от латеральных элементов СК (Armstrong et al., 2002). Для того чтобы установить, связаны

ли нарушения синапсиса с дефектами белков СК, мы провели иммуноцитохимическое исследование и использовали антитела к белкам арабидопсиса для поиска соответствующих ортологов у ржи.

Метод заливки мейоцитов в акриламид позволил получить их ядра в виде объемного трехмерного объекта и увидеть объединение осей, образованных белком Asy1 у растений дикого типа. У мутанта *sy1* вилок спаривания не образуется. У мутанта *sy9* образуются прерывистые осевые элементы, но только в 10% мейоцитов, в большинстве же ядер сигнал отсутствует (Михайлова и др., 2009). Контрастное отличие по этому признаку двух асинаптических предопределило возможность проведения генетического анализа взаимодействия двух генов (Голубовская и др., 1984). Реализовать такую возможность позволило недавно установленное абсолютное сцепление генов *SY1* и *SY9* с молекулярными маркерами (Малышев и др., 2009). В потомстве, полученном от самоопыления дигетерозиготы, иммуноцитохимический сигнал, соответствующий осям Asy1, был обнаружен в профазе I как у растений дикого типа, так и у мутантов *sy1*. У мутантов *sy9* и двойных мутантов были выявлены очень короткие фрагменты осей в сочетании с отдельными точечными фокусами, что делало их фенотипы по этому признаку неразличимыми (Ловцюс и др., 2009).

Таким образом, мутация *sy9* нарушает процесс сборки линейных трактов белка Asy1, но не сопровождается нарушениями ни в формировании «раннего кластера», ни в образовании промежуточных продуктов рекомбинации, связанных с участием рекомбиногенных белков Rad51/Dmc1 (см. рисунок).



Ключевые события профазы I мейоза и время включения генов синапсиса у ржи *Secale cereale* L.

С другой стороны, дефект «раннего кластера» и сопряженный с этим блок рекомбинации на этапе взаимодействия ДНК с белками Rad51 и Dmc1 не сопряжены с нарушением сборки линейных трактов белка Asy1 у асинаптического мутанта *sy1* (см. рис.).

Выявленный нами эпистаз гена *SY9* над геном *SY1* свидетельствует в пользу того, что ген *SY9* действует в мейозе раньше, чем *SY1*, что, в свою очередь, явно указывает на независимость ранних событий рекомбинации на уровне ДНК от начальных этапов синапсиса у ржи. С другой стороны, сопоставление фенотипических портретов мутантов *sy1* и *sy9* позволяет заключить, что события синапсиса у ржи являются определяющими для завершения событий рекомбинации.

Одновременное инкубирование мейоцитов с антителами к белкам Asy1 и Zyp1 и использование конфокальной микроскопии позволило установить, что сборка этих белков на осях мейотических хромосом начинается у ржи до формирования «ранних кластеров», т. е. в предмейотической интерфазе, с образования обособленных друг от друга точечных дисперсных центров, которые преобразуются в ранней профазе I в обособленные друг от друга линейные тракты. Характер сборки белков Asy1 и Zyp1 на осях мейотических хромосом отличает рожь от арабидопсиса, риса и кукурузы (Armstrong et al., 2002; Higgins et al., 2005; Hamant et al., 2006; Nonomura et al., 2006) и не отвечает существующей модели «застежка молнии», в соответствии с которой белок центрального пространства присутствует только в районах трехполосого СК (Михайлова и др., 2010).

Именно такая структура выявлена нами у ржи на стадии пахитены: в каждом биваленте видны два слоя Asy1, между которыми располагается один слой Zyp1. У мутанта *sy10* белки Asy1 и Zyp1 в избытке присутствуют на мейотических хромосомах, образуя двухполосые линейные треки (Mikhailova et al., 2006). Иначе говоря, асинопсис у мутанта *sy10* не является результатом дефектности сборки и взаимодействия белков Asy1 и Zyp1 на осях мейотических хромосом. При этом сборка СК осуществляется индискриминантным образом, т. е. имеются переключения с гомологичного партнера синапсиса хромосом на негомологичный (фенотип изображен схематично в таблице), а в рекомбинацию вовлечены как гомологичные, так и негомологичные хромосомы, причем чаще в обмены вовлекаются плечи хромосом, имеющие мало гетерохроматина или участки локальной деконденсации. Ген *sy10*, по-видимому, кодирует белок, необходимый для соединения двухполосых треков Asy1Zyp1 в трехполосую структуру СК. Роль этого белка может заключаться в завершении рекомбинации по гомологичному или негомологичному сценарию. Недавно такой белок уже был найден у млекопитающих (Bolcun-Filas et al., 2007). Показано, что он необходим для репарации двуцепочечных разрывов ДНК (DSBs) и осуществления гомологичной рекомбинации. Мутантный фенотип *sy10* как раз и может быть обусловлен мутацией в гене, контролирующей осуществление рекомбинации, с чем синапсис у ржи, очевидно, связан.

Таким образом, сравнительно-генетический подход и использование цитогенетической модели – оригинальной «Петергофской» коллекции мейотических мутантов ржи *S. cereale* L. – в молекулярно-биологических экспериментах позволило выявить элементы консервативности и специфичности в реализации генетического контроля следующих ключевых этапов мейоза у ржи: кластеризации теломерных и центромерных доменов хромосом, рекомбинации, сборки СК.

Консервативность рекомбиногенных белков Rad51 и Dmc1, гомологичных двум доменам одного белка RecA кишечной палочки *Escherichia coli*, позволила нам амплифицировать и клонировать фрагменты ортологичных генов ржи, а консервативность устройства эпитопов этих белков – применить методы иммуноцитохимии и локализовать их с использованием антител к ортологичным белкам томатов на хроматине в мейозе у ржи дикого типа и у двух ее синаптических мутантов: асиноптика *sy9* и десинаптика *sy10*.

Успешность иммуноцитохимической локализации белков синапсиса Asy1 и Zyp1 у ржи с использованием антител к ортологичным белкам арабидопсиса свидетельствует в пользу консервативности третичной структуры этих белков в районах эпитопов у отдельных представителей покрытосеменных растений, относящихся к разным классам, а именно: к классам однодольных и двудольных.

Выявленные специфические особенности мейоза у ржи позволили предложить гипотезу об иерархии связей между отдельными ключевыми событиями у этого организма: кластеризация теломерных и центромерных доменов хромосом, а также правильная конденсация хромосом в ядрах микроспороцитов ржи на стадиях

предмейотической интерфазы-профазы I обеспечивают успешное осуществление ранних событий рекомбинации. События, связанные с инициацией и успешностью сборки линейных треков белка Asy1, являются определяющими для завершения рекомбинации, но не для ее инициации. Сборка трехполосой структуры СК также необходима для завершения рекомбинации и обеспечивается белком, отличным от Zyp1.

Литература

- Богданов Ю. Ф. Сходство доменной организации белков у филогенетически далеких организмов как основа консерватизма мейоза // Онтогенез. 2004. Т. 35. № 6. С. 415–423.
- Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Л.: Наука, 1987. 260 с.
- Голубовская И. Н., Христоробова Н. Б., Урбах В. Г., Сафонова В. Г. Двойные мейотические мутанты кукурузы и проблема регуляции мейоза // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 2. С. 423–428.
- Ловцюс А. В., Долматович Т. В., Михайлова Е. И., Малышев С. В., Войлоков А. В., Соснихина С. П. Получение двойных мутантов по синаптическим генам SY1 и SY9 у ржи и их изучение методами молекулярной цитогенетики // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2009. Вып. 4. (Сер. 3 : Биология). С. 47–56.
- Малышев С. В., Долматович Т. В., Войлоков А. В., Соснихина С. П., Цветкова Н. В., Ловцюс А. В., Картель Н. А. Молекулярно-генетическое картирование асинептических генов sy1 и sy9 ржи (*Secale cereale* L.) с использованием микросателлитных и изозимных маркеров // Генетика. 2009. Т. 45. № 12. С. 1634–1640. (Malyshev S. V., Dolmatovich T. V., Voylovkov A. V., Sosnikhina S. P., Tsvetkova N. V., Lovtsus A. V., Kartel' N. A. Molecular genetic mapping of the sy1 and sy9 asynaptic genes in rye (*Secale cereale* L.) using microsatellite and isozyme markers // Russian J. Genetics. 2009. V. 45. N. 12. P. 1444–1449.)
- Михайлова Е. И., Филлис Д., Тимофеева Л. П., Ловцюс А. В., Осина О. А., Джонс Р. Н., Дженкинс Г. Стратегии в молекулярно-цитогенетическом изучении ключевых событий в мейозе у ржи // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Состояние, проблемы, перспективы : Материалы II Вавиловской международной конференции. СПб.: ВИР, 2009. С. 142–160.
- Михайлова Е. И., Ловцюс А. В., Соснихина С. П. Некоторые особенности реализации ключевых событий мейоза у ржи и ее синаптических мутантов // Генетика. 2010. Т. 46. № 10. С. 1371–1375.
- Соснихина С. П., Михайлова Е. И., Тихолиз О. А., Прияткина С. Н., Смирнов В. Г., Войлоков А. В., Федотова Ю. С., Коломиец О. Л., Богданов Ю. Ф. Коллекция мейотических мутантов ржи *Secale cereale* L. // Генетика. 2005б. Т. 41. № 10. С. 1310–1321. (Sosnikhina S. P., Mikhailova E. I., Tikholiz O. A., Priyatkina S. N., Smirnov V. G., Voylovkov A. V., Fedotova Yu. S., Kolomiets O. L., Bogdanov Yu. F. Genetic collection of meiotic mutants of rye *Secale cereale* L. // Russian J. Genetics. 2005. V. 41. N. 10. P. 1071–1080).
- Armstrong S. J., Caryl A. P., Jones G. H., Franklin F. C. H. Asy1, a protein required for meiotic chromosome synapsis, localizes to axis-associated chromatin in *Arabidopsis* and *Brassica* // J. Cell Sci. 2002. V. 115. P. 3645–3655.
- Bass H. W., Bordoli S. J., Foss E. M. The desynaptic (dy) and desynaptic1 (dsy1) mutations in maize (*Zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase // J. Exp. Botany. 2003. V. 54. N. 380, Plant Reproductive Biology Special Issue. P. 39–46.
- Bennett M. D., Rao M. K., Smith J. B., Bayliss M. W. Cell development in the anther, the ovule and the young seed of *Triticum aestivum* L. var Chinese Spring // Phil. Trans R. Soc. Lond. B Biol Sci. 1973. V. 266. P. 39–81.
- Bolcun-Filas E., Costa Y., Speed R., Taggart M., Benavente R., De Rooij D. G., Cooke H. J. SYCE2 is required for synaptonemal complex assembly, double strand break repair, and homologous recombination // J. Cell Biol. 2007. V. 176. № 6. P. 741–747.

- Gerton J. L., Hawley R. S. Homologous chromosome interaction in meiosis: diversity amidst conservation // *Nature*. 2005. V. 6. P. 477–487.
- Golubovskaya I. N., Grebennikova Z. K., Anger D. L., Sheridan W. F. The maize desynaptic 1 mutation disrupts meiotic chromosome synapsis // *Dev. Genetics*. 1997. V. 21. P. 146–159.
- Hamant O., Ma H., Cande W. Z. Genetics of meiotic prophase I in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 267–302.
- Higgins J. D., Sanchez-Moran E., Armstrong S. J., Jones G. H., Franklin F. C. H. The Arabidopsis synaptonemal complex protein ZYP1 is required for chromosome synapsis and normal fidelity of crossing over // *Genes and Development*. 2005. V. 19. P. 2488–2500.
- Jenkins G., Okumus A. Indiscriminate synapsis in achiasmatic *Allium fistulosum* (Liliaceae) // *Cell Sci.* 1992. V. 103. P. 415–422.
- Jenkins G. M., Mikhailova E. I., Langdon T., Tikholiz O. A., Sosnikhina S. P., Jones R. N. Strategies for the study of meiosis in rye // In: "Plant Cytogenetics" – A special volume of Cytogenetic and Genome Research (Guest Editors M. J. Puertas, T. Naranjo). 2005. V. 109. P. 221–227.
- Lynn A., Soucek R., Borner G. V. ZMM proteins during meiosis: Crossover artists at work // *Chromosome Research*. 2007. V. 15. P. 591–605.
- Mikhailova E. I., Sosnikhina S. P., Kirillova G. A., Tikholiz O. A., Smirnov V. G., Jones R. N., Jenkins G. Nuclear dispositions of subtelomeric and pericentromeric chromosomal domains during meiosis in asynaptic mutants of rye (*Secale cereale* L.) // *J. Cell Sci.* 2001a. V. 114. № 10. P. 1875–1882.
- Mikhailova E. I., Phillips D., Sosnikhina S. P., Lovtsyus A. V., Jones R. N., Jenkins G. Molecular assembly of meiotic proteins Asy1 and Zyp1 and pairing promiscuity in rye (*Secale cereale* L.) and its synaptic mutant sy10 // *Genetics*. 2006. V. 174. № 3. P. 1247–1258.
- Nairz K., Klein F. mre11S – a yeast mutation that blocks double-strand-break processing and permits nonhomologous synapsis in meiosis // *Genes and Development*. 1997. V. 11. P. 2272–2290.
- Nonomura K.-I., Nakano M., Eiguchi M., Suzuki T., Kurata N. PAIR2 is essential for homologous chromosome synapsis in rice meiosis I // *J. Cell Sci.* 2006. V. 119. P. 217–225.
- Page S. L., Hawley R. S. The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004. V. 20. P. 525–558.
- Scherthan H. Chromosome behaviour in earliest meiotic prophase // *Chrom. Today*. 1997. V. 12. P. 217–248.
- Schwarzacher T. Meiosis, recombination and chromosomes: a review of gene isolation and fluorescent in situ hybridization data in plants // *J. Exp. Botany*. 2003. V. 54. № 380. Plant Reproductive Biology Special Issue. P. 11–23.
- Shaw P., Moore G. Meiosis: Vive la difference! // *Curr. Opin. Plant Biol.* 1998. V. 1. P. 458–462.
- Sosnikhina S. P., Mikhailova E. I., Tikholiz O. A., Priyatkina S. N., Smirnov V. G., Dadashev S. Y., Kolomiets O. L., Bogdanov Y. F. Meiotic mutations in rye *Secale cereale* L. // A special volume of Cytogenetic and Genome Research (Guest Editors M.J. Puertas, T. Naranjo). 2005. V. 109. P. 215–220.
- Yu H., Wang M., Tang D., Wang K., Chen F., Gong Z., Gu M., Cheng Z. OsSPO11-1 is essential for both homologous chromosome pairing and crossover formation in rice // *Chromosoma*. 2010. V. 119. P. 625–636.
- Zickler D. From early homologue recognition to synaptonemal complex formation // *Chromosoma*. 2006. V. 115. P. 158–174.
- Zickler D., Kleckner N. Meiotic chromosomes: Integrating structure and function // *Annu. Rev. Genet.* 1999. V. 33. P. 603–754.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ЛЬНА В ВИРЕ: ФУНДАМЕНТАЛЬНОЕ И ПРИКЛАДНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Е. А. Пороховинова¹, К. Морван², Н. Б. Брач¹, С. Н. Кутузова¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: e.porohovinova@vir.nw.ru.

²Laboratoire de Chimie PBS, UMR 6270 CNRS, FR 3038, University de Rouen, Faculte de Sciences,
Boulevard de Broglie, 76821, Mont-Saint-Aignan Cedex, France,
e-mail: claudine.morvan@univ-rouen.fr.

Резюме

В результате классического генетического анализа изучено наследование 30 генов, контролирующих изменчивость морфологических признаков льна.

Показано, что генетический контроль карликовости осуществляется рецессивным аллелем гена *dwarf 1 (dw1)*, имеющим плейотропный эффект на деформацию цветка. С помощью дискриминантного анализа доказано неполное доминирование гена *dw1* по высоте и длине междоузлия. Доказано сцепление (21cM) гена *dw1* и гена фиолетовой окраски цветка *sfc1*. Тест на аллелизм показал, что ген *dw1* и ген *curly stem 1 (cs1)*, контролирующий фенотип «кудрявый» стебель, неаллельны, наследуются независимо и их действие комплементарно.

Установлено, что рецессивные гомозиготы по гену *white flower 1* имеют положительную корреляцию с короткой фазой всходы–цветение ($r_{bs} = 0,52$).

С использованием рангового критерия U Манна–Уитни показано, что у коричневых семян достоверно ниже доля пентозанов и выше – пектинов. У желтых семян, наоборот, достоверно больше пентозанов и меньше пектинов. Выявлено, что линии, гомозиготные по гену *star flower1*, с желтыми семенами имеют достоверно больше глюкозы и пентозанов и меньше пектинов.

Ключевые слова: *Linum usitatissimum*, генетическая коллекция, гены, морфологические признаки, карликовость, слизь семян.

VIR FLAX GENETIC COLLECTION: FUNDAMENTAL AND APPLIED USE

Е. А. Porokhovinova¹, C. Morvan², N. B. Brutch¹

¹N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: e.porohovinova@vir.nw.ru.

²Laboratoire de Chimie PBS, UMR 6270 CNRS, FR 3038, University de Rouen, Faculte de Sciences,
Boulevard de Broglie, 76821, Mont-Saint-Aignan Cedex, France,
e-mail: claudine.morvan@univ-rouen.fr.

Summary

Inheritance of 30 genes controlling morphological characters' variability has been evaluated in flax by classical genetic analysis.

The genetic control of dwarfness was analyzed. The *dwarf 1 (dw1)* gene is recessive for dwarfness and flower deformation. The discriminant analysis determined that it is semi dominant for plant height and internodelength. A link (21cM) between the *dw1* gene and the *sfc1* gene of violet flower has been proved. A test for allelism has shown that the *dw1* gene and *curly stem 1 (cs1)* gene that controls the "curly" stem phenotype are not allelic, are inherited independently and act complementarily.

It was found that the homozygotes recessive for *white flower 1 (wfl)* gene have a correlation with the short germination–flowering stage ($r_{bs} = 0,52$).

The U Mann–Whitney rank test showed that the brown seeds have a significantly lower percent of pentosans and higher percent of pectins. Yellow seeds, in contrast, reliably contain much

more of pentosans and less of pectins. It was found that the lines homozygous for the *star flower 1* (*sl*) gene with yellow seeds had reliably more glucose and pentosans and less pectins.

Key words: *Linum usitatissimum*, genetic collection, genes, morphological characters, dwarfism, mucilage seeds.

Введение

Генетическая коллекция ВИР создается на базе генетических ресурсов льна мировой коллекции ВИР. Коллекция генетических ресурсов льна ВИР составляет 5840 образцов, а генколлекция насчитывает 397 линий шестого поколения инбридинга. Только 9% линий получено из других учреждений, все остальные созданы сотрудниками отдела. Эти линии выровнены по морфологическим и хозяйственно ценным признакам.

Начало генколлекции льна ВИР было положено в 70-х годах прошлого века линиями с генами устойчивости к ржавчине. Сейчас в нее входят практически все исходные линии Г. Флора и линии из стародавних сортов с эффективными генами устойчивости, а также 19 линий-доноров, аналогов сортов Оршанский 2 и Призыв 81 (Кутузова, 1994; Кутузова, 2012). Затем коллекция пополнилась линиями, контрастными по длительности фаз вегетационного периода.

С конца 80-х годов прошлого века в коллекцию интенсивно включаются линии с различными морфологическими признаками. Сейчас в ней представлено наиболее полное в мире разнообразие льна по окраске и форме цветка, плодов и семян (Брач и др., 2005). В данной статье речь пойдет об этой части коллекции.

Материал и методы

В скрещиваниях использовались линии генетической коллекции ВИР. Исходная линия Agt1393/02, гомозиготная по гену *cs1*, была получена в результате EMS мутагенеза Е. Тейкловой (фирма Агритек, Чехия) (Tejklova, 2002). На основе этой линии была создана линия гк-396. Карликовый мутант сорта Новоторжский был также получен с использованием EMS мутагенеза с последующим отбором Т. А. Горшковой (институт биофизики и биохимии, Казань) и сотрудниками Terre de Lin, Франция.

В тестах на аллелизм использовали линии, выделенные из описанных в литературе сортов и линий, а также непосредственно полученные из генетической коллекции УкрНИИМК (Лях и др., 2003).

Гены, установленные с помощью анализа гибридов F₂ от парных скрещиваний между 32 линиями (табл. 1) по морфологическим признакам, изучали методами классического генетического анализа (Тихомирова, 1990) с использованием оригинальных макросов, написанных автором в среде MS Excel 2007.

При изучении наследования карликовости (количественный признак) для разделения классов доминантных гомозигот и гетерозигот применяли дискриминантный анализ с использованием программы Statistica 7.0 (Наследов, 2012; StatSoft Inc., 2013).

Связь раннего цветения с окраской лепестков у гибридов F₂ определяли с помощью t-критерия Стьюдента и бисериального коэффициента корреляции (Лакин, 1990).

Для изучения биохимического состава полисахаридов слизи льна использовали семена 29 линий и 3 районированных сортов (см. табл. 1), выращенных на полях Пушкинских лабораторий ВИР (Ленинградская обл.).

Биохимический анализ слизи проводили в университете г. Руана. Десять семян каждой линии замачивали в 2 мл бидистиллированной воды ($t^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$, $2\times 1\text{ч.}$, первый раз перемешивая). Моносахаридный состав полученного раствора слизи (процент арабинозы (Ara), ксилозы (Xyl), рамнозы (Rha), галактуроновой кислоты (GalA),

фукозы (Fuc), галактозы (Gal) и глюкозы (Glc)) изучали с помощью газовой хроматографии после лиофильной сушки, метанолиза и силилирования по стандартной методике (Gobet et al., 1995). Затем вычисляли процент пектина (pect = Rha + GalA) и арабиноксилана (AX = Ara + Xyl).

Для выявления различий в составе сахаров слизи семян у контрастных групп применяли ранговый критерий U Манна–Уитни с использованием программы SPSS13 (Наследов, 2012).

Результаты и обсуждение

Лепестки у льна бывают различных оттенков белого, голубого, фиолетового и розовых цветов, однородно или неоднородно окрашенные. Цветок может быть разной формы – от открыто-раздельной до свернутой. Есть линии как с обычным, так и с деформированным цветком, или деформированными только тычиночными нитями. Пыльники могут быть синими, голубыми, серыми, светло оранжевыми или желтыми. Семена бывают различных оттенков коричневого, зеленого и желтого цветов (Brutch et al., 2004).

С использованием генетического анализа было изучено наследование 30 генов окраски и формы цветка и семян (см. табл. 1; Пороховинова, 2011). Четыре из них (*s1*, *sfb1*, *pbc1*, *pbc3*) действуют на цвет гипокотыля, ослабляют окраску лепестков и делают их деформированными. Ген *star 1* (*s1*) также в зависимости от аллельного состояния обуславливает желтую (*s1*) или зеленую (*s1-2*) окраску семян.

Пять неаллельных генов (*fe*, *wf1*, *dlb1*, *dlb3*, *dlb4*) контролируют светло-голубую окраску цветка. Ген *fe* обладает плейотропным эффектом на цвет гипокотыля и пятнистость семян. Ген *white flower 1* (*wf1*) полудоминантный.

Ген *pink flower 1* (*pfl*) обуславливает розовый венчик, оранжевые пыльники и желтый оттенок семян. Ген модификатор *Reduced Pink Flower 1* (*RPF1*) ослабляет розовую окраску лепестков. Еще один ген *yellow seeds after pink flower 1* (*yspfl*) ослабляет окраску семян до желтой только у гомозигот по другому аллелю *pfl* – *pfl-ad*.

Три гена ответственны за разные оттенки фиолетового (*sfc1,2,3*) и один – за синий (*sfc5*) цвет лепестков. Ген *star violet flower 1* (*svf1*) делает звездчатыми фиолетовые цветки *sfc2*.

Два неаллельных гена *orange anthers 1* и *2* (*ora1* и *2*) отвечают за оранжевые пыльники, первый также осветляет тычиночные нити и делает крапчатыми семена.

Три неаллельных гена контролируют только окраску семян: доминантный *YSED1* и рецессивный *used2* – желтую, а ген *rs1* – светло желто-коричневую.

К другим органоспецифическим генам относятся гены *sgh1*, обуславливающий зеленую окраску гипокотыля, и *FPI*, контролирующей продольную складку лепестков. Ген *Ciliated Septa of the Boll 1* (*CSB1*) контролирует формирование ресничек на ложной перегородке коробочки. Несмотря на миниатюрность признака, он очень важен, так как входит в признаки UPOV, и обязателен при описании однородности сортов (UPOV, 2007).

Ген *yellow green plant1* (*ygp1*) ответственен за желто-зеленую окраску растущих растений. Гены *zeb1* и *zeb2* обуславливают фенотип растения «зебрина», повышенную фоточувствительность, и как следствие – низкорослость и мелкие деформированные цветки.

Проведены тесты на аллелизм между генами линий нашей коллекции и генами линий из других коллекций, имеющих сходные фенотипы. Доказана аллельность следующих генов[†]: *s1* и *pbl*, *b1*, *s1-2*; *sfb1* и б/н.; *pbc1* и *pbc1-2*; *wf1*, *nc* и *x*; *dlb3*, *dlb3-2*,

[†]Гены по классификации: *p^{bl}*, *n^c*, *a^d*, *L^r*, *n^f*, *f^e* – F. Plonka (Plonka, 1971, Dubois et al., 1979), *e* – T. Tammes (1928), *x*, б/н. – В. Лях (Лях и др., 2003), *YI* – F. Popescu, I. Marinescu (1996), *YSED18* – G. Rowland, R. Wilen (1998).

dlb3-3 и *e* = *dlb3-e*; *ora2* и б/н.; *pfl* и *ad* = *pfl-ad*, б/н.; *RPF1*, *Lr* и б/н.; *sfc1* и б/н.; *sfc3-2* и *nf* = *sfc3*; *CSB1*; *YSED1* = *Y1*, *YSED18*. Линия с геном *fe* получена из коллекции Ф. Плонка.

Таблица 1. Характеристика инбредных линий льна генетической коллекции ВИР с установленным генетическим контролем морфологических признаков и линий и сортов льна с изученным биохимическим составом слизи

№ кол. ВИР [‡]	Родословная	Гены	Фенотип
Линии с деформированными лепестками			
гк-103*§	л-4 из к-5896 (Lin 225, Нидерланды)	<i>s1</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, сложенные и гофрированные, желтые пыльники и семена
гк-136*	л-1 из к-6634 (Mermilloid, Чехия)	»	То же
гк-137	л-1 к-6645 (Modzuron, Чехословакия)	<i>s1-2</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, сложенные и гофрированные, желтые пыльники, зеленые семена
гк-351*	л-1 из (гк-136 × гк-121), Россия	<i>s1</i> , <i>rs1</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, сложенные и гофрированные, желтые пыльники и семена
гк-132*	л-1 из к-6608 (Curgong, Австралия)	<i>sfbs1</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, слабо сложенные и слабо гофрированные, удлинённые; желтые пыльники, красно-коричневые семена
гк-391*	л-1-2 из и-606179 (Eyre, Австралия)	<i>sfbs1</i> , <i>YSED1</i> , <i>CSB1</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, слабо сложенные и слабо гофрированные, удлинённые, желтые пыльники и семена, реснички на ложной перегородке коробочки
гк-208	л-1 из к-7947 (Pale Blue Crimped, США)	<i>pbc1</i>	Светло-фиолетовый гипокотиль, лепестки белые с голубым оттенком, гофрированные, желтые пыльники, красно-коричневые семена
гк-53	л-1-4 из к-1044 (Витебский кряж, Белоруссия)	<i>pbc3</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые с голубовато-фиолетовым оттенком, сложенные и гофрированные; светло-оранжевые пыльники, красно-коричневые семена
гк-172	л-1 из к-7771 (Beta 15, Чехословакия)	<i>dlb3-2</i> , <i>FPI</i>	Фиолетовый гипокотиль, лепестки очень светло-голубые, с продольными складками, голубые пыльники, красно-коричневые семена
гк-100	л-1-2-1-2 из к-5821 (Karnobat 5, Венгрия)	<i>sfc2</i> , <i>svf1</i>	Фиолетовый гипокотиль, лепестки сине-фиолетовые, сложенные и гофрированные, голубые пыльники, красно-коричневые семена
гк-281	л-1-8 спонтанный мутант из гк-2 (сел. Альтгаузена, Россия)	<i>zeb1</i> , <i>zeb2?</i>	Пониженная жизнеспособность на свету. При затенении чередование продольных белых и зеленых полос (<i>zebrina</i>) у листьев, цветки мелкие, ярко-фиолетовые, деформированные, красно-коричневые семена
Линии и сорта с белыми или светло-голубыми недеформированными лепестками			
гк-109*	л-3-2 из к-6099 (Makovi M.A.G. Аргентина)	<i>wf1</i>	Фиолетовый гипокотиль, белые лепестки, голубые пыльники, красно-коричневые семена
гк-176*	л-1 из (гк-141 × гк-103), Россия	<i>pfl</i> , <i>s1</i>	Зеленый гипокотиль, белые лепестки, желтые пыльники, желто-коричневые семена
гк-124*	л-1 из к-6284 (Stormont Motley, Сев. Ирландия)	<i>fe</i> , <i>dlb4</i>	Светло-фиолетовый гипокотиль, очень светло-голубые лепестки, серые пыльники, красно-коричневые с желтым пятном семена
гк-1	л-1 из к-30 (сел. Альтгаузена, Россия)	<i>dlb1</i> , <i>ora2</i>	Фиолетовый гипокотиль, очень-очень светло-голубые лепестки, светло-оранжевые пыльники, красно-коричневые семена
гк-210	л-1 из и-588294 (Б-125, Упитская о. с., Литва)	<i>ygp1</i> , <i>dlb3</i>	Фиолетовый гипокотиль, светло-голубые лепестки, голубые пыльники, красно-коричневые семена. Желто-зеленая окраска растущего растения

[‡] гк- — номер линии по каталогу генетической коллекции ВИР, к- или и- — номер сорта по каталогу ВИР (для сортов).

^{§*} — линии и сорта с изученным биохимическим составом слизи.

№ кол. ВИР	Родословная	Гено- тип	Фенотип
к-7822*	Циан, ВНИИМК, Россия	<i>dlb3</i> , <i>CSB1</i>	Фиолетовый гипокотиль, светло-голубые лепестки, голубые пыльники, красно-коричневые семена, реснички на ложной перегородке коробочки
гк-141*	л-1 из к-6815 (мутант из сорта К-6, Россия)	<i>pfl</i> , <i>rpf1</i>	Фиолетовый гипокотиль, розовые лепестки с голубовато-розовыми жилками, светло-оранжевые пыльники, темно-желто-коричневые семена
Линии с розовыми недеформированными лепестками и светло-оранжевыми пыльниками			
гк-143*	л-1 из к-6917 (с (47-4) 80 Versailles, Франция)	<i>pfl-ad</i> , <i>rpf1</i>	Фиолетовый гипокотиль, розовые лепестки с голубовато-розовыми жилками, светло-оранжевые пыльники, семена желто-коричневые
гк-129*	л-2 из к-6392 (Bolley Golden, США)	<i>pfl-ad</i> , <i>RPF1</i> , <i>yuspfl</i>	Фиолетовый гипокотиль, белые с розовым оттенком лепестки с голубовато-розовыми жилками, белые тычиночные нити и столбики, светло-оранжевые пыльники, желтые семена
гк-255*	л-3 из гк-121 × гк-141, Россия, ВИР	<i>pfl</i> , <i>sfc1</i> , <i>rs1</i>	Фиолетовый гипокотиль, розовые лепестки с фиолетово-розовыми жилками, светло-оранжевые пыльники, желто-коричневые семена
Линии и сорта с фиолетовыми или голубыми недеформированными лепестками			
гк-121*	л-1-1 из к-6272 (L. Domi-nion, Северная Ирландия)	<i>sfc1</i> , <i>rs1</i> , <i>SPS1</i>	Фиолетовый гипокотиль, сине-фиолетовые лепестки, голубые пыльники, светло-желто-коричневые семена
гк-173*	л-1 из и-548145 (48254 Ottawa 2152, Германия)	<i>sgh1</i> , <i>sfc3-2</i> , <i>CSB1</i> , <i>yse2</i>	Зеленый, затем светло-фиолетовый гипокотиль, красно-фиолетовые лепестки, голубые пыльники, желтые семена, реснички на ложной перегородке коробочки
гк-179	л-1 из и-549589 (Швеция)	<i>sfc5</i>	Фиолетовый гипокотиль, синие лепестки и жилки, голубые пыльники, красно-коричневые семена
гк-65*	л-3 из к-3178 (местный, Тверская губ.)	<i>ora1</i> , <i>sps1</i>	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки, светло-голубые тычиночные нити, светло-оранжевые пыльники, красно-коричневые с желтой крапчатостью семена
гк-159*	л-1-1 из к-7659 (Bionda, Германия)	<i>CSB1</i> , <i>YSED1</i>	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки и пыльники, желтые семена, реснички на ложной перегородке коробочки
гк-390*	л-1 из и-595808 (Linola, Канада)	»	»
гк-395*	л-1 из и-601680 (Walaga, Австралия)	»	»
гк-54	л-5 из к-1507 (местный, Вятская губ.)	<i>waf1</i>	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки, белые тычиночные нити, синие столбики, голубые пыльники, красно-коричневые семена
гк-2*	л-1 из к-48 (сел.Альтгаузена, Россия)	<i>csb1</i>	Дикий тип. Фиолетовый гипокотиль, голубые плоские лепестки, синие тычиночные нити и столбики, голубые пыльники, красно-коричневые семена, ресничек на ложной перегородке коробочки нет
гк-22*	л-3-2 из к-562 (Псковский кряж, Россия)	—	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки и пыльники, красно-коричневые семена, ресничек на ложной перегородке коробочки нет
гк-79*	л-1-2 из к-5408 (Печерский кряж, Россия)	—	»
гк-91	л-1 из к-5522 (Палкинский кряж, Россия)	—	»
к-6807*	Оршанский 2, Беларусь	—	»
гк-160*	л-1-2 из к-7659 (примесь в сорте Bionda, Германия)	—	»
гк-125*	л-5-1 из к-6296 (Koto, США)	—	»

№ кол. ВИР	Родословная	Гено- тип	Фенотип
гк-130*	л-1 из к-6577 (Medra, Чехия)	—	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки и пыльники, красно-коричневые семена, ресничек на ложной перегородке коробочки нет
гк-394*	л-3 из и-595808, (примесь в сорте Linola, Канада)	—	»
к-8409*	Кинельский 2000, Россия	—	Фиолетовый гипокотиль, голубые лепестки и пыльники, красно-коричневые семена, реснички на ложной перегородке коробочки
гк-393*	л-2 из и-595808 (примесь в сорте Linola, Канада)	—	»
Линии с деформированным стеблем			
гк-397	Emezzy (EMS мутант сорта Новоторжский, Россия, Франция)	<i>dw1</i>	Фиолетовый гипокотиль, голубые трубчатые цветки с синими укороченными тычиночными нитями, красно-коричневые семена. Высота ~ 25 см, толстый стебель, укороченные междоузлия (карлик)
гк-396*	л-1-1 из и-605311, (Curly, Agt1393/02, Чехия, Шумперк)	<i>sfbs1</i> , <i>cs1</i>	Зеленый гипокотиль, лепестки белые, слабо сложенные и слабо гофрированные, удлинённые, желтые пыльники, красно-коричневые семена. Высота растения около 25 см, «кудрявый» стебель

К признакам, которые найдут в будущем применение в фундаментальных исследованиях, можно отнести истинную карликовость и такой признак, как «кудрявый стебель». Под истинной карликовостью в данном случае подразумевается карликовость с моногенным контролем, в отличие от полигенного, известного для льна кудряша.

Таблица 2. Генетический контроль карликовости у гибридов F2 ♀ гк-2 × ♂ гк-397 (Ленинградская обл., 2011 г.)

	Родительские линии		Гибриды				n	χ ²
	гк-2	гк-397	F1	F2				
Фенотип:	высокий	карлик	средний	высокий	средний	карлик		
Техническая высота (Ht), см	69±5	27±1	50±3	72±6	58±4	28±3		
Длина междоузлия (Int), см	1,20±0,11	0,37±0,04	0,87±0,08	1,00±0,08	0,83±0,09	0,42±0,07		
Функция классификации*				302,7×Int + 6,2×Ht – 399,4	211,8×Int + 4,8×Ht – 216,3	96,0×Int + 2,4×Ht – 50,6		
Генотип				DW1 DW1	DW1 dw1	dw1 dw1		
Теор. расщ.				1	2	1	4	5,99
Практ. расщ.				38	65	34	134	0,59
Теор. расщ.				3		1	4	3,78
Практ. расщ.				186		57	243	0,31

* Фенотипы определяли по результатам дискриминационного анализа.

В 2006 г. в коллекцию ВИР из Франции поступил мутант “Emezzi” сорта Новоторжский, полученный в результате химического мутагенеза. Исходный сорт – типичный долгунец около метра высотой, тогда как мутантная линия имеет высоту около 25 см, толстый стебель при том же количестве листьев, трубчатые цветки,

укороченные тычиночные нити (см. табл. 1). Нами установлен моногенный контроль этого признака. Ген *dwarf 1* (*dw1*) рецессивный по отношению к деформации цветка и полудоминантный по высоте и длине междоузлия.

Фенотип «карлик» легко идентифицируется, а доминантные гомозиготы и гетерозиготы плохо различаются. Их разделение проводили при помощи дискриминантного анализа (табл. 2) с использованием программы Statistica 7.0 (Наследов, 2012; StatSoft, Inc. 2013). В качестве обучающей выборки (центр каждого класса) использовали родительские линии, их гибриды F1 и 4 растения гибрида F2, гетерозиготность которых была очевидна. Гибрид принадлежал к тому классу, где значение функции классификации максимально. Значение коэффициента λ Уилкса = 0,014, approx. F=136,24 (теор.=4,74). Для обучающей выборки была получена 100% корректная классификация. Карликовость и ее генконтроль у льна описаны нами впервые. Установлено сцепление гена *dw1* и гена фиолетовой окраски цветка *sfc1* в 21cM (табл. 3).

Таблица 3. Расщепление гибридов F2 ♀гк-255 × ♂гк-397 по окраске цветка и карликовости (Ленинградская обл., 2011 г.)

Фенотип:	Классы расщепления гибридов F2, повторяющие фенотипы				n	χ^2 практ.
	P1	P2	F1	рекомбинантные		
Высота растения	высокий	карлик	высокий	карлик		
Жилки лепестка	фиолетовые	синие или голубые	синие или голубые	фиолетовые		
Практ. расщ.	48	43	82	2	175	
Теор. расщ: независимое	3	3	9	1	16	20,24*
сцепленное (21cM)	3,8	3,8	8,2	0,2	16	1,60

* - χ 20,05, 3=7,81

Другая линия Curly Agt1393 с идентифицированным геном *curly stem 1* (*cs1*) получена нами из Чехии. Мы подтвердили (табл. 1, 4) описанное ранее его неполное доминирование (Tejcklova, 2002).

Тест на аллелизм показал, что гены *dw1* и *cs1* неаллельны (табл. 5), наследуются независимо и их действие комплементарно.

Таблица 4. Расщепление гибридов F2 ♀гк-2 × ♂гк-396 по признаку «кудрявый стебель» (Ленинградская обл., 2011 г.)

Стебель	Классы расщепления гибридов F2, повторяющие фенотипы:			n	χ^2
	P1	P2	F1		
	гладкий	кудрявый	волнистый		
Теор. расщ.	1	1	2	4	5,99
Практ. расщ.	44	31	75	150	2,25

Для практического применения важно определить, есть ли корреляция (либо сцепление, либо плейотропный эффект) между морфологическими, а значит легко определяемыми признаками и хозяйственно ценными. Если корреляций нет, то признак может просто использоваться для защиты сорта как от прямого заимствования, так и от вовлечения в скрещивание конкурентами, и контролировать его чистоту. Если связь обнаружена, то значительно облегчается отбор по признакам «интереса».

Одним из наиболее ценных признаков для льна является раннеспелость, которая позволяет провести его уборку и росную мочку в благоприятное время.

Таблица 5. Расщепление гибридов F2 ♀ гк-397 Ч ♂ гк- 396 по форме стебля
(Ленинградская обл., 2011 г.)

Стебель	Фенотипы гибридов F2, повторяющие фенотипы:						n	χ^2
	P1	P2	F1	рекомбинантные				
«Кудрявость»	гладкий	кудря- вый	волнис- тый	гладкий	волнис- тый	кудря- вый		
Карликовость	карлик	высо- кий	высокий	высокий	карлик	карлик		
Теор. расщ.	1	3	5	3	2	1	16	11,07
Практ. расщ.	17	47	82	41	29	18	234	1,95

С использованием t-критерия Стьюдента нами доказана достоверность различий гибридов F2 от скрещивания линий гк-136 (WF1) и гк-109 (wf1), несущих разные аллели гена *white flower 1* (*wf1*), по продолжительности периода всходы – начало цветения. При использовании бисериального коэффициента корреляции было установлено, что рецессивные гомозиготы по гену *wf1* имеют умеренную положительную корреляцию с короткой фазой всходы – цветение ($r_{bs} = 0,52$). Различия по срокам зацветания значимы и для ряда доминантная гомозигота – гетерозигота – рецессивная гомозигота. Признак всходы–цветение в этом скрещивании имеет как минимум триггерный контроль и, возможно, другие два гена снизили силу корреляции этих признаков (Пороховинова, 2000).

Для первичного скрининга коллекции по неизученным, трудоемким или требующим дорогостоящих анализов признакам логично использовать линии с идентифицированными генами различного эколого-географического происхождения.

В последние несколько лет в России и за рубежом резко возросло производство семян льна. Их применяют традиционно на масло для технических целей и при изготовлении люксовых продуктов питания. При техническом использовании как побочный продукт остается слизь. Она в свою очередь применяется как связывающее вещество в биоразлагаемых композиционных материалах (Alix et al., 2008). В кулинарии слизь является необходимой и решающей частью беззлакового теста, обеспечивая рыхлость и упругость конечного продукта (Киреева и др., 2012).

Слизь – это сложный полисахарид, состоящий из нейтральной (пентозан) и кислой (пектин) фракций, которые связаны между собой многократно в неизвестной последовательности. Всего в слизь входят 9 моносахаридов. Для пентозанов это в основном арабиноза и ксилоза, для пектинов – рамноза и галактуроновая кислота, остальные 5 сахаров могут быть у обеих фракций. Исходя из своих физико-химических свойств слизь находит свое применение в разных областях промышленности. Так, в кулинарии важны пентозаны, а при производстве композиционных материалов – определенные пектины, но не существует метода, разделяющего слизь на фракции (Naran et al., 2008). Для определения состава слизи можно использовать только газовую хроматографию, требующую высокотехнологичного оборудования и дорогостоящих реактивов.

Для изучения углеводного состава слизи из генколлекции ВИР были отобраны 29 линий и 3 сорта различного происхождения и цвета семян (см. табл. 1). Выявление различий в соотношении сахаров у контрастных групп проводили с помощью рангового критерия U Манна–Уитни (Наследов, 2012), который показал, что у коричневых семян достоверно ниже доля пентозанов и выше – пектинов. У желтых семян, наоборот, достоверно больше пентозанов и меньше пектинов (табл. 6). Наши данные согласуются с результатами других исследователей, которые выявили различия

по соотношению кислой и основной фракций в семенах разного цвета (Cui et al., 1996) и также отметили, что некоторые сорта льна имеют противоположную закономерность.

В генетической коллекции ВИР есть линии различного эколого-географического происхождения с аллельными генами окраски семян. По той же методике мы сравнили линии с аллельными генами окраски семян с остальными линиями.

Было выявлено, что линии, гомозиготные по гену *star flower1 (sl)*, с желтыми семенами (их было 4 разного происхождения) имеют достоверно больше глюкозы и пентозанов (в том числе ксилозы и арабинозы) и меньше пектинов (в том числе рамнозы и галактурановой кистоты). Эти линии могут быть использованы в хлебопечении. С осторожностью можно говорить о введении гена *sl* в сорта для кулинарного использования. Для линий-гомозигот по доминантному гену *Yellow Seed1 (YSED1)* влияние цвета семян на моносахаридный состав слизи доказано не было, хотя три из четырех имели максимальный процент пентозанов. Не было обнаружено связи с соотношением сахаров и для семян с желтым оттенком, гомозиготных по гену *pink flower1(pfl)* (табл. 6).

Таблица 6. Сравнение углеводного состава слизи семян линий льна генетической коллекции ВИР с различным генотипом по критерию U Манна–Уитни

Признак		Наличие признака	n	Пентозаны	Пектины	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Галактуроновая кислота	Глюкоза	
Семена	Коричневые	есть*	15	22,0±2,4*	55,1±1,7	4,2±0,5	17,9±1,9	23,9±0,9	31,2±1,1	2,7±0,4	
		нет	16	30,5±1,5	47,5±1,5	5,7±0,4	24,8±1,2	21,5±0,7	26,1±1,0	4,4±0,9	
		р		0,01	0,00	0,02*	0,01	0,08	0,002	0,15	
	Желтые	есть	9	31,8±2,3	46,3±2,3	5,7±0,7	26,1±1,8	21,2±1,0	25,1±1,3	4,8±1,2	
		нет	22	24,2±1,8	53,2±1,4	4,6±0,4	19,5±1,4	23,2±0,7	29,9±0,9	3,1±0,5	
		р		0,03	0,02	0,10	0,03	0,14	0,01	0,28	
	Гомозигота по ген	sl	есть	4	35,7±0,6	40,6±0,6	6,9±0,3	28,8±1,0	18,1±0,7	22,5±1,2	8,8±2,1
			нет	27	25,0±1,6	52,8±1,2	4,7±0,4	20,3±1,3	23,3±0,6	29,4±0,8	2,8±0,3
			р		0,02	0,003	0,01	0,02	0,003	0,01	0,01
YSED1		есть	4	30,3±4,4	48,2±3,9	5,9±0,9	24,4±3,5	22,4±1,6	25,8±2,4	4,0±1,2	
		нет	27	25,8±1,7	51,6±1,4	4,8±0,4	21,0±1,3	22,7±0,7	28,9±0,9	3,5±0,6	
		р		0,38	0,41	0,35	0,44	1,00	0,22	0,60	
pfI		есть	5	28,4±2,1	48,3±2,3	5,1±1,1	23,3±1,3	22,0±1,3	26,3±1,2	4,6±1,8	
		нет	26	26,0±1,8	51,7±1,5	4,9±0,4	21,1±1,5	22,8±0,7	29,0±1,0	3,4±0,5	
		р		0,67	0,26	0,63	0,52	0,96	0,22	0,24	

* – p – вероятность сходства групп по двум альтернативным признакам (есть – наличие признака, нет – его отсутствие); p < 0,05 – достоверные различия групп по признаку (выделены жирным шрифтом), n – число линий.

Заключение

Генетическая коллекция льна ВИР, созданная по морфологическим признакам, может использоваться в новых нетрадиционных направлениях из-за своего богатого межлинейного (или внутривидового) разнообразия и внутрелинейной однородности.

Литература

- Брач Н. Б., Пороховинова Е. А., Кутузова С. Н. Генетические коллекции важнейших с. х. культур. Лен // Идент. генофонд раст. и сел. СПб. : ВИР, 2005. С. 303–330.
- Киреева М. С., Маркина В. Ю., Меркулова М. И., Пороховинова Е. А., Егги Э. Э., Красильников В. Н. Перспективное использование семени льна в специализированном питании // Роль льна в улучш. среды обит. и активном долголетии чел.: Материалы межд. науч.-практ. сем. Тверь, 2012. С. 181–185.

- Кутузова С. Н. Генетические основы длительной устойчивости сортов льна к ржавчине // Генетика. 1994. Т. 30. № 10. С. 1363–1373.
- Кутузова С. Н. Генетическая природа устойчивости отечественных сортов льна-долгунца к возбудителю ржавчины *Melampsora lini* Pers.(Lev) // С.-х. биол. 2012. N 5. С.70–77.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: В.Ш., 1990. 351 с.
- Лях В. А., Мищенко Л. Ю., Полякова И. А. Генетическая коллекция вида *Linum usitatissimum* L. Запорожье, 2003. 60 с.
- Наследов А. Д. Математические методы психологического исследования. Анализ и интерпретация данных. СПб., 2012, 392 с.
- Пороховинова Е. А. Генетический контроль морфологических признаков льна // Труды по прикл. бот., ген. и сел. СПб.: ВИР, 2011. Т. 167. С. 159–184.
- Пороховинова Е. А. Изучение наследования окраски и формы цветка и семян, а также ее связи с продолжительностью фазы всходы-цветение у льна (*Linum usitatissimum* L.) // Н.-информ. бюл. ВНИИР : [Иссл. ген. рес. раст. для целей сел. в разл. рег. России]. 2000. Вып. 239. С. 56–58.
- Тихомирова М. М. Генетический анализ. Л.: ЛГУ, 1990. 280 с.
- Alix S., Marais S., Morvan C., Lebrun L. Biocomposite materials from flax plants: Preparation and properties // Composites. Part A. 2008. V. 39. P. 1793–1801.
- Brutch N. B., Porokhovinova E. A. Kutuzova S. N. Morphological diversity of flowers and seeds in flax (*Linum usitatissimum* L.). New approach to the creation of the descriptor and database for these characters // Proceedings of FAO workshop of the FAO European co-operative research network on flax and other bast plants dedicated to the 60th anniversary of AGRITEC Ltd. "Mapping of European germplasm for international flax database creation, use in breeding for different flax and linseed varieties" Sumperk, Czech Republic, September 18-19. 2002, 2004. P. 49–58.
- Cui W., Kenaschuk E., Mazza G. Influence of genotype on chemical composition and rheological properties of flaxseed gums // Food Hydrocolloids. 1996. V. 10. P. 221–227.
- Dubois J., Harborne J., Bablom B., Plonka F. The inheritance of flower colors and anthocyanins in flax (*Linum usitatissimum* L.) // Ann. de l'amelioration de plantes Institute National de la recherche Agronomique. 1979. V. 29. № 3. P. 267–276.
- Gobet F., Bourland T., Girault R., Alexandre C., Vandeveld M. C., Morvan C. Structural features of galactans from flax fibres // Carbohydr. Polym. 1995. V. 27. P. 221–227.
- Naran R., Chen G., Carpita N. Novel rhamnogalacturonan I and arabinoxylan polysaccharides of flax seed mucilage // Plant Physiology. 2008. V. 148. P. 132–141.
- Plonka F. La competition polinique ches le Lin cultive // Paris: Annales de l'amelioration de plantes Institute National de la recherche Agronomique. 1971. V. 21, № 2. P. 179–220.
- Popescu F.; Marinescu I. Y1 – a dominant gene for yellow colour of oil flax seeds // Probleme de genetica teoretica si aplicata. 1996. V. 28 (2). P. 99–106.
- Rowland G. G., Wilen R. New Trends in Linseed Breeding // Processing of the Bast Fibrous. Plants Today and Tomorrow, Breeding, Molecular Biology and biotechnology Beyond 21st Century. St. Petersburg, 1998. P. 32–35.
- StatSoft, Inc. Electronic Statistics Textbook. Tulsa, OK: StatSoft. 2013. <http://www.statsoft.com/textbook/>.
- Tammes T. The genetics of the genus *Linum* // Bull. Genet. 1928. V. 4. P. 1–36.
- Tejcklova E. Curly stem – an induced mutation in flax (*Linum usitatissimum*) // Czech. J. Genet. Plant Breed. 2002. V. 38. № 3–4. P. 125–128.
- UPOV 2007. Protocol for distinctness, uniformity and stability tests *Linum usitatissimum* L. flax, linseed. UPOV, European Union, 2007. 23 p.

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АУТЕНТИЧНЫХ ГЕРБАРНЫХ ОБРАЗЦОВ
КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ СЕКЦИИ *PETOTA* DUMORT.
РОДА *SOLANUM* L. ИЗ КОЛЛЕКЦИЙ WIR И LE***

**Е. А. Крылова, А. Б. Овчинникова, Л. Ю. Новикова, И. Г. Чухина, Т. Н. Смекалова,
Л. И. Костина, Т. А. Гавриленко**

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт - Петербург, Россия,
e-mail: katrin@newmail.ru

Резюме

Приведены результаты морфометрического анализа 28 морфологических признаков вегетативных и генеративных органов растений, выполненного на материале 185 аутентичных гербарных образцов 9 культурных видов картофеля секции *Petota* рода *Solanum* (*S. ajanhuiri*, *S. andigenum*, *S. chaucha*, *S. chilotanum*, *S. curtilobum*, *S. goniocalyx*, *S. juzepczukii*, *S. phureja*, *S. stenotomum*) из гербариев ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова (WIR) и Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (LE). На основании полученных результатов проведена переоценка таксономической значимости ряда морфологических признаков.

Ключевые слова: морфологические признаки, гербарные образцы, культурные виды картофеля.

**MORPHOMETRIC ANALYSIS OF AUTHENTIC HERBARIUM SPECIMENS
FROM WIR AND LE COLLECTIONS OF CULTIVATED POTATO SPECIES
OF THE SECTION *PETOTA* DUMORT. IN THE GENUS *SOLANUM* L.**

**E. A. Krylova, A. B. Ovchinnikova, L. Yu. Novikova,
I. G. Chukhina, T. N. Smekalova, L. I. Kostina, T. A. Gavrilenko**
N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS,
St. Petersburg, Russia, e-mail: katrin@newmail.ru

Summary

Morphometric analysis of 28 morphological characters of vegetative and generative plant organs was made for 9 cultivated species from the section *Petota*, genus *Solanum* (*S. ajanhuiri*, *S. andigenum*, *S. chaucha*, *S. chilotanum*, *S. curtilobum*, *S. goniocalyx*, *S. juzepczukii*, *S. phureja*, *S. stenotomum*) presented by 185 authentic herbarium specimens from the Vavilov Institute of Plant Industry (WIR) and Komarov Botanical Institute (LE) herbaria. Taxonomic importance of some morphological characters has been re-examined on the basis of the obtained results.

Key words: morphological characters, herbarium specimens, cultivated potato species.

Подсекция *Potatoe* G. Don. секции *Petota* рода *Solanum* объединяет как многочисленные дикие виды, так и группу культурных видов, которая представлена местными южно-американскими сортами. Обширный материал из Эквадора, Колумбии, Перу, Боливии, Аргентины, Чили, Мексики и Гватемалы был собран экспедициями ВИР в 20-е годы прошлого века. До этого времени существовало мнение, что культурный картофель представлен исключительно одним линнеевским видом – *Solanum tuberosum* L. (Linnaeus, 1753). Тщательное изучение морфологических признаков образцов, собранных экспедициями ВИР, позволило в 1929 году С. В. Юзепчуку и С. М. Букасову создать первую систему группы культурных видов,

* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-32250 мол-а и проекта МНТЦ 3329.

которая включала 13 видов. На протяжении следующих 50 лет С. М. Букасов неоднократно менял свое представление об её объеме и составе. Наиболее известна система 1978 года, в соответствии с которой в настоящее время в ВИРе структурирована коллекция культурных видов. Разные систематики включали в данную группу от 3 до 21 видов (Dodds, 1962; Лехнович, 1971; Букасов, 1978; Ochoa, 1990, 1999; Hawkes, 1990; Горбатенко, 2006; Spooner et al. 2007 и Ovchinnikova et al. 2011) и использовали для построения своих систем морфолого-географический метод и данные об уровне плоидности; две последние системы учитывали также результаты молекулярно-генетического анализа.

Целью настоящей работы являлось изучение изменчивости морфологических признаков и оценка их таксономической значимости с использованием выборки аутентичных гербарных образцов культурных видов из гербарных коллекций WIR и LE.

Материал включал 106 типовых образцов (holotypus, lectotypus, syntypus, isotypus) 9 культурных видов и их внутривидовых таксонов (Юзепчук, Букасов, 1929, Букасов, 1933; Букасов, 1978): *S. ajanhuiri* Juz. et Buk. (ajh) – 4 образца; *S. andigenum* Juz. et Buk. (adg) – 59; *S. chaucha* Juz. et Buk. (cha) – 1; *S. chilotanum* (Buk. et Lechn.) Hawkes (tbr) – 25; *S. curtilobum* Juz. et Buk. (cur) – 2; *S. goniocalyx* Juz. et Buk. (gon) – 2; *S. juzepczukii* Buk. (juz) – 2; *S. phureja* Juz. et Buk. (phu) – 7; *S. stenotomum* Juz. et Buk. (stn). В скобках и на рисунках указаны трехбуквенные обозначения названия видов (Hawkes, 1990). Этот типовой материал был дополнен 79 аутентичными образцами из фондов гербариев WIR и LE. Гербарные образцы 7 культурных видов (*S. boyacense* Juz. et Buk., *S. canarense* Buk., *S. cuencanum* Juz. et Buk., *S. kesselbrenneri* Juz. et Buk., *S. rybinii* Juz. et Buk., *S. mamilliferum* Juz. et Buk., *S. tenuifilamentum* Juz. et Buk.) представлены в гербариях WIR и LE лишь единичными листьями, поэтому в морфометрический анализ они включены не были.

Для 185 аутентичных гербарных образцов мы провели оценку изменчивости 28 морфологических признаков вегетативных и генеративных органов растений по Z. Huaman и D. Spooner (2002) (см. таблицу). Для характеристики таких вариабельных признаков, как размер и форма листовой пластинки, терминальных и латеральной долей листа, размер венчика, использованы различные индексы, которые являются более постоянными величинами по сравнению с абсолютными показателями длины и ширины органов растения. Изучение морфологических признаков листа проводили на листьях 4–5 ярусов, а признаки репродуктивных органов оценивали для 2–3 цветка на первом соцветии. На гербарных листах представлена только наземная часть растений, поэтому признаки клубней, указанные в первоописаниях (Юзепчук, Букасов, 1929), не изучали. Результаты измерений морфологических признаков были занесены в электронную базу данных в формате Microsoft Excel-2003, рассчитаны индексные показатели. Для группы образцов каждого вида были рассчитаны средние значения и показатели вариабельности признаков. Графики на рис. 1 иллюстрируют размах изменчивости и структуру вариационного ряда признаков видов. Графики на рис. 2 демонстрируют различия между средними значениями признаков видов. Оценку достоверности различий между средними значениями проводили с использованием критерия Тьюки (*Tukey HSD for unequal N/Post-hoc analysis* в пакете Statistica for Windows 6.0, блок ANOVA).

Результаты наших исследований подтвердили, что хорошо различимым и надежным является признак положения сочленения цветоножки. Признак высокого положения сочленения цветоножки указан только в первоописании *S. juzepczukii* (Юзепчук, Букасов, 1929). Согласно полученным нами данным, растения гербарных образцов двух видов, *S. juzepczukii* и *S. curtilobum*, достоверно отличались высоким положением сочленения цветоножки ($1/5$ от основания чашечки) от образцов других культурных видов, с более низким положением сочленения ($1/3$ от основания чашечки) (признак 16 табл., рис. 1, 2). Таксономическая значимость этого признака отмечена и

для *S. juzepczukii*, и для *S. curtilobum* при изучении образцов живых растений (Hawkes, 1990; Huaman, Spooner, 2002; Gavrilenko et al. 2010).

Список изученных морфологических признаков

	Название признака
1	Длина междоузлий (см)
2	Отношение: длина листа / ширина листа
3	Отношение: длина прямой, соединяющей верхушку терминального листочка и место пересечения черешка листа с прямой, характеризующей ширину листа, / длина листа
4	Длина черешка листовой пластинки (см)
5	Отношение: длина терминального листочка / ширина терминального листочка*
6	Отношение: длина от пересечения линии наиболее широкой части терминального листочка с центральной жилкой до его верхушки / длина терминального листочка
7	Отношение: длина латерального листочка / ширина латерального листочка*
8	Отношение: длина от пересечения линии наиболее широкой части первого латерального листочка с центральной жилкой до его верхушки / длина первого латерального листочка
9	Отношение: длина наиболее дистального латерального листочка / длина черешка листа от места прикрепления первого латерального листочка до четвертого латерального листочка
10	Отношение: расстояние между верхушками левого и правого наиболее дистального латерального листочка / длина первого латерального листочка
11	Отношение: длина терминального листочка / длина наиболее дистального латерального листочка*
12	Отношение: длина третьего латерального листочка / длина второго латерального листочка
13	Число листочков листа (доли) *
14	Число листочков второго порядка (дольки) *
15	Число листочков третьего порядка (долечки) *
16	Отношение: длина цветоножки от основания до сочленения / длина цветоножки*
17	Сочленение цветоножки: четкое (0) / нечеткое (1) *

18	Тип чашечки: симметричная (0) / ассиметричная (1) *
19	Длина зубцов чашечки (мм)*
20	Отношение: длина долей чашечки / ширина долей чашечки*
21	Радиус венчика (=длина лепестка) (мм) *
22	Отношение: длина трубки венчика / длина лепестка
23	Отношение: ширина основания отгиба лепестка / длина отгиба лепестка
24	Длина выступающей над пыльником части пестика (мм)
25	Длина пыльников (мм) *
26	Ширина пыльников (мм) *
27	Длина столбика (мм) *
28	Длина тычиночных нитей (мм) *

* отмечены признаки, указанные в первоописании (Юзепчук, Букасов, 1929).

Отдельно остановимся на признаке тип чашечки. «Нерегулярная» (асимметричная чашечка со сросшимися в разных комбинациях чашелистиками (2)+(3) или (2)+(2)+1) указана в первоописаниях 4 видов (*S. ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*). Этот тип чашечки подтвержден у всех образцов *S. stenotomum* и *S. goniocalyx* для тех листов, на которых чашечка видна. К сожалению, у гербарных растений *S. phureja* чашечка недоступна для исследования. Для всех гербарных образцов *S. ajanhuiri* выявлен регулярный тип чашечки, что противоречит указаниям протолога («calyx saepius irregularis», Юзепчук, Букасов, 1929, стр. 605). «Регулярная» чашечка (симметричная, с несросшимися чашелистиками) указана в протологе *S. juzepczukii* (Юзепчук, Букасов, 1929); мы подтверждаем наличие этого признака у всех образцов этого вида. Данный признак не указан в первоописаниях *S. andigenum*, *S. chaucha*, *S. chilotanum*, *S. curtilobum*. У образцов *S. chaucha* и *S. curtilobum* выявлен регулярный тип чашечки на листьях, где чашечка видна, а у *S. andigenum* и *S. chilotanum* образцы различались между собой по данному признаку. Таким образом, этот признак можно использовать с осторожностью.

На рисунках 1 и 2 приведены примеры наиболее значимых отличительных признаков, которые позволяют выделять те или иные таксоны. По результатам морфометрического анализа гербарных образцов не удалось выявить достоверных отличий культурных видов по признакам, характеризующим форму долей чашечки, размеры и форму венчика, длину выступающей над пыльником части пестика, размеры пыльников, длину столбика и тычиночных нитей, хотя эти признаки указаны в первоописаниях как таксономически значимые (Юзепчук, Букасов, 1929).

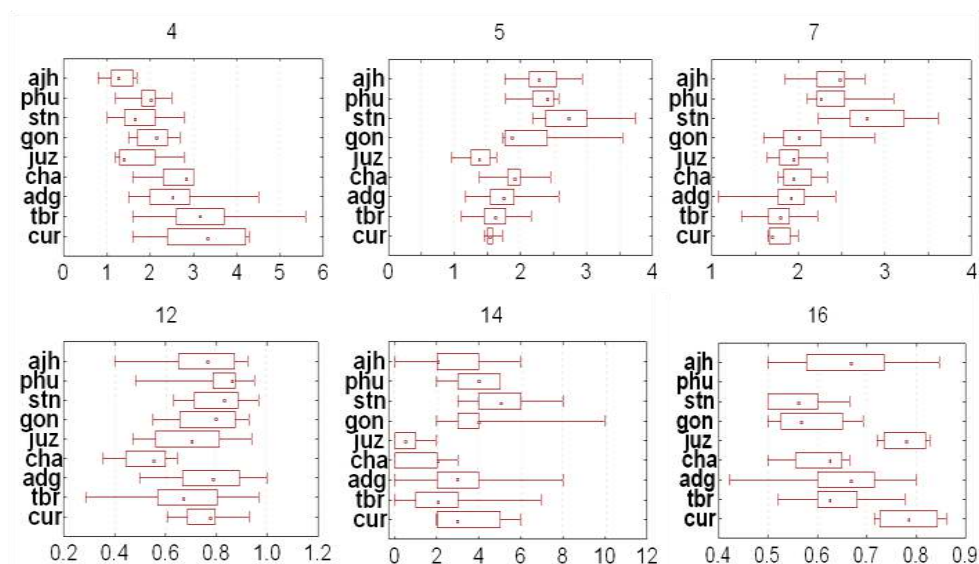


Рис. 1. Примеры сравнения вариабельности признаков культурных видов
 Обозначения: □ медиана, □ 1-я и 3-я кватили, — min и max значения

Такие признаки, как степень рассеченности листа и форма листочков, указаны в протоколах большинства культурных видов (Юзепчук, Букасов, 1929) (признаки 14, 5, 7 таблицы, рис. 1, 2). Слаборассеченная листовая пластинка характерна, как указано в первоописании, для *S. juzepczukii* и *S. rybinii*, который не участвовал в морфометрическом анализе. Юзепчук и Букасов (1929) отмечали большую степень рассеченности листовой пластинки у *S. ajanhuiri*, *S. andigenum*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*. Данный признак не упоминается в протоколах *S. chaucha* и *S. curtilobum*. Согласно данным морфометрического анализа, у образцов *S. juzepczukii* число промежуточных листочков второго порядка (или долек) варьировало от 0 до 2 (признак 14 табл., рис. 1, 2), что согласуется с первоописанием. Однако у других культурных видов также отмечены отдельные образцы, у которых отсутствуют или встречаются лишь единичные промежуточные листочки второго порядка, поэтому следует с осторожностью использовать данный признак при определении видовой принадлежности образцов. Большое число промежуточных листочков второго порядка характерно для *S. ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum* (признак 14 табл., рис. 1, 2), что не противоречит первоописаниям.

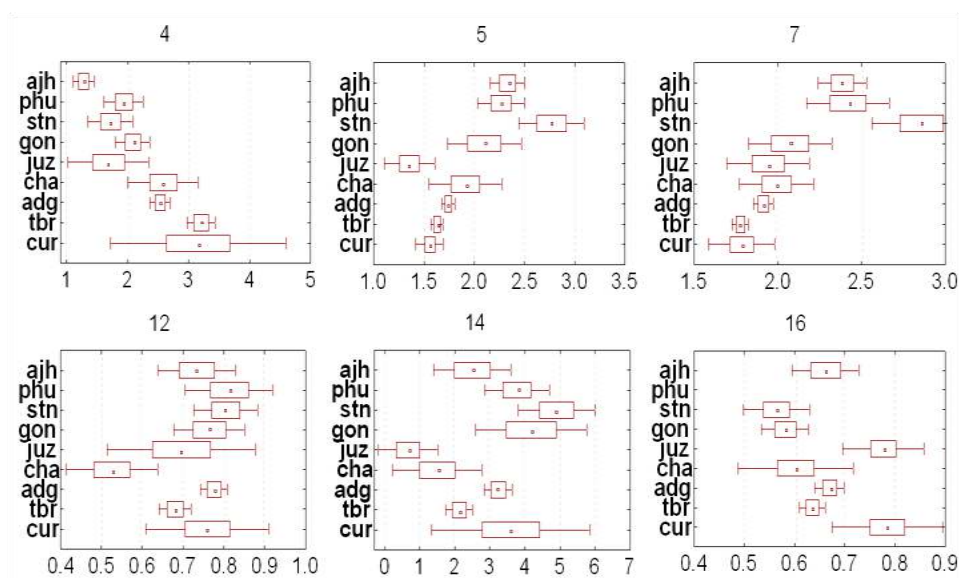


Рис. 2. Примеры сравнения средних значений признаков культурных видов

Обозначения: ■ средняя арифметическая, □ стандартная ошибка средней, доверительный 95%-ный интервал средней

Узкие доли листа отмечены в первоописаниях у *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*; широкоовальные доли листа – у *S. juzepczukii* (Юзепчук, Букасов, 1929). Признак формы долей листа не указан в первоописаниях *S. ajanhuiri*, *S. andigenum*, *S. chaucha*, *S. curtilobum*. По нашим данным, растения *S. stenotomum* имели наиболее узкие терминальные и латеральные доли листа, достоверно отличаясь от образцов всех других изученных видов по значениям (наивысшим) соответствующих индексов (признаки 5 и 7 табл., рис. 1, 2). Узкие доли листа также отличали образцы *S. ajanhuiri*, *S. phureja*, *S. goniocalyx*, которые по значениям индексов долей не различались между собой, но достоверно отличались от образцов остальных видов. Гербарные образцы *S. juzepczukii* имеют широкие терминальные доли листа, среднее значение соответствующего индекса у *S. juzepczukii* достоверно ниже, чем у образцов *S. ajanhuiri*, *S. chaucha*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum* (признак 5 таблицы, рис. 1, 2).

Результаты морфометрического анализа гербарных растений также позволили:

1) установить таксономическую значимость признака длины черешка листа для *S. ajanhuiri*, что не указано в первоописании (Юзепчук, Букасов, 1929): растения *S. ajanhuiri* имеют короткий черешок листа и достоверно отличаются по среднему значению этого признака от *S. andigenum*, *S. chaucha*, *S. chilotanum*, *S. curtilobum* (признак 4 таблицы, рис. 1, 2);

2) подтвердить таксономическую значимость ряда признаков, различающих между собой два тетраплоидных вида – *S. andigenum* и *S. chilotanum*: достоверные отличия выявлены по величине средних значений признаков: 1, 4, 6, 9, 11, 13, 14, 15 (см. таблицу).

Таким образом, результаты морфометрического анализа подтвердили надежность лишь нескольких диагностических признаков и не выявили значимых различий для большинства показателей, что связано со значительной изменчивостью морфологических признаков культурных видов, затрудняющей их разграничение и обуславливающей разногласия в классификациях этой таксономически сложной группы видов.

Литература

- Букасов С. М. Картофели Южной Америки и их селекционное использование. Л., 1933. 53 с.
- Букасов С. М. Принципы систематики картофеля // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Л.: ВИР, 1978. Т. 62. Вып. 1. С. 3–35.
- Горбатенко Л. Е. Виды картофеля Южной Америки. СПб., 2006. 456 с.
- Лехнович В. С. Культурные виды картофеля // Культурная флора СССР. Картофель. Л., 1971. Т. IX. 448 с.
- Юзепчук С. В., Букасов С. М. К вопросу о происхождении картофеля // Труды Всесоюз. съезда по генетике, селекции, семеноводству и плем. животноводству. 1929. Т. 3. С. 593–611.
- Dodds K., G. Paxman. The genetic system of cultivated potatoes // Evolution. 1962. V. 16. P. 154–167.
- Gavrilenko T. et al. A microsatellite and morphological assessment of the Russian National cultivated potato collection // Genetic Resources and Crop Evolution. 2010. V. 57. P. 1151–1164.
- Hawkes J. The potato. Evolution, biodiversity, genetic resources // Belhaven Press. London. 1990. 259 p.
- Huaman Z., Spooner D. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*) // Amer. J. Bot. 2002. V. 89. P. 947–965.
- Linnaeus C. Species Plantarum. Stockholm, 1753. V. 1. P. 185.
- Ochoa C. The potatoes of Bolivia. Cambridge University Press, 1990. 525 p.
- Ochoa C. Las papas de Sudam e rica: Peru (parte I) // Intern. Potato Center, Lima, Peru. 1999.

- Ovchinnikova A. et al.* Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*) // Bot. J. of the Linnean Society. 2011. V. 165. P. 107–155.
- Spooner D. et al.* Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 9398–9403.

ДОЛГОВЕЧНОСТЬ СЕМЯН ПРИ ХРАНЕНИИ И ЕЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ МЕТОДОМ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

Г. Ф. Сафина, Г. И. Филипенко

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: g.safina@vir.nw.ru

Резюме

Отработаны методики ускоренного старения семян мягкой озимой пшеницы, фасоли и гороха, подходящие для прогнозирования их долговечности при хранении. Наиболее подходящим для отслеживания динамики старения оказался режим, при котором температура была 37°C, а влажность семян на 2–3% ниже критической. В этих условиях снижение всхожести практически до нуля происходило в течение одного–двух месяцев, кривые изменения жизнеспособности соответствовали таковым при длительном хранении. Время старения исследованных образцов зависело не только от исходной всхожести и влажности семян, но и от их генетических особенностей.

Ключевые слова: пшеница, фасоль, горох, длительное хранение генетических ресурсов растений, ускоренное старение семян.

LONGEVITY OF SEEDS AT STORAGE AND ITS PREDICTING BY THE ACCELERATED AGEING METHOD

G. F. Safina, G. I. Filipenko

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

Summary

Accelerated ageing techniques applicable to the seed of winter wheat, common bean and peas, suitable have been elaborated for predicting seed longevity at storage. The mode with 37 °C and seed moisture content 2-3% below the critical one proved to be the most suitable for supervizing dynamics of ageing. In these conditions, viability decreased practically to zero within one-two months and the curves of viability change corresponded to those at long-term storage. The time of the studied samples ageing depended not only on initial viability and seed moisture content, but also on their genetic features.

Key words: wheat, common bean, peas, long-term storage of genetic resources of the plants, the accelerated ageing of seeds.

Введение

В настоящее время в мире насчитывается более 1500 учреждений, в которых поддерживаются условия, обеспечивающие длительное хранение семян (Алексян, 2003). Однако долговечность семян зависит не только от условий хранения, но и от их исходной всхожести, размера, спелости, условий выращивания, наличия или отсутствия патогенных микроорганизмов, видовых особенностей и многих других факторов, которые довольно трудно учесть при организации хранения (Крокер, Бартон, 1955; Хорошайлов, 1973; Робертс, 1978; Justice, Bass, 1978; Walters et al., 2005; Nagel, Börner, 2010; Rehman Arif et al., 2011). В связи с этим в генбанках растений большое значение уделяется разработке методов прогнозирования долговечности семян, способности к хранению без снижения всхожести.

Значительный интерес представляет один из таких методов – метод ускоренного старения семян (*accelerated ageing test*), изначально предложенный для сравнения промышленных партий семян по способности к хранению (Delouche, Baskin, 1973). Его суть состоит в искусственном ускорении процесса старения путем экспозиции семян в течение непродолжительного времени при повышенной температуре и высокой относительной влажности.

При проведении ускоренного старения существует два основных методических приема: первый представляет собой инкубацию семян одновременно при повышенной температуре и влажности воздуха; второй состоит из двух последовательных этапов – вначале повышают влагосодержание семян при температуре 20–25°C, затем семена герметично запаковывают и инкубируют при повышенной температуре. При использовании первого способа, который можно назвать открытым хранением, семена довольно быстро теряют всхожесть и, видимо, не столько от депрессии обменных процессов, сколько от продуктов метаболизма бурно развивающейся микрофлоры (Лихачев и др., 1978). При втором способе – закрытом хранении, существенных изменений в количественном и качественном составе микрофлоры не происходит при условии, что семена заложены с влажностью, если и превышающей критическую, то ненамного. Вероятно, происходит аутоконсервация зерна углекислым газом, выделяющимся при дыхании (Беккер, 1934). Однако во втором способе несколько смущает то, что отсчет времени старения семян начинается, только тогда, когда повышают температуру. Между тем ухудшение качества семян может произойти уже на подготовительном этапе в процессе увлажнения.

Возможность использования метода ускоренного старения для прогнозирования долговечности семян при хранении широко изучалась в ВИР (Баранова, Жукова, 1984; Зайцев и др., 1984), сопоставлялись физиолого-биохимические изменения в семенах при ускоренном старении и длительном хранении (Лихачев и др., 1978). Работы проводились на зерновых культурах. Использовались температуры 30, 37, 40°C, различная исходная влажность семян. В зависимости от выбранного режима время старения колебалось от двух недель до двух месяцев.

Но в целом ускоренное старение семян в большой степени нашло применение для определения силы роста семян (Робертс, 1978; Justice, Bass, 1978; Алексейчук, 2009). В настоящее время метод ускоренного старения семян входит в число методов, рекомендованных ISTA для определения силы роста семян (*Accelerated ageing test*, 1995). Согласно рекомендациям ISTA ускоренное старение проводят при температуре 41–45°C, выдерживая семена на сетке над водой в пластиковой коробке в течение 48–144 часов в зависимости от вида. Это довольно жесткий метод, позволяющий за несколько дней выявить различия по качеству между партиями семян. Существуют модификации метода ускоренного старения, в которых применяют даже более высокую температуру – 40–60°C (Siddiqui et al., 2008) или более высокую влажность – 25 и 35 % (Савинов и др., 1997).

Многие современные исследователи, изучающие генетический аспект долговечности семян, используют методику ускоренного старения, рекомендованную ISTA (Nagel et al., 2009, 2011; Rehman Arif et al., 2011). Но остается открытым вопрос, насколько изменения, происходящие в семенах при столь резких воздействиях, сопровождающиеся лавинообразным снижением всхожести, близки изменениям при естественном старении.

Представляется целесообразным, опираясь на опыт ВИР, разработать такие методики ускоренного старения семян различных сельскохозяйственных культур, при которых динамика снижения всхожести была бы сходна с таковой при длительном хранении, что в какой-то степени свидетельствует о сходстве происходящих процессов.

В связи с тем, что скорость старения зависит от видовых особенностей, разработку методик ускоренного старения семян необходимо проводить по группам

культур, это дает возможность, по крайней мере, учесть различия в гигроскопичности семян.

Целью настоящей работы было отработать методики ускоренного старения семян мягкой озимой пшеницы, фасоли и гороха, подходящие для прогнозирования их долговечности.

Материалы и методы

Для опыта были взяты семена пяти образцов озимой мягкой пшеницы, двух образцов гороха и двух образцов фасоли из коллекции ВИР. Образец пшеницы сорта Мироновская 808 (к-43920) был выращен на Павловской опытной станции ВИР в 2006 г., остальные четыре образца пшеницы: Лютесценс 3192 (к-49563), Martonvasari 08-82 (к-58350), Martonvasari 11-83 (к-58351), Альбидум 525 (к-58546) – на Кубанской опытной станции ВИР в 2004 году. Два образца семян фасоли, представляющие собой генетически разнородный селекционный материал, полученный в результате мутагенеза сорта Mont d'or (к-14910), были выращены в полях Пушкинских лабораторий ВИР в 2007 г. Семена гороха сорта Чешминский 229 (к-9103) и сорта Заводоуковский 1 (к- 9100) были также репродуцированы в Пушкине в 2004 г.

Перед началом опытов определяли исходную всхожесть (ГОСТ 12038-84) и влажность семян (ГОСТ 12041-82). Увлажнение семян осуществляли в открытых стеклянных бутылочках объемом 50 мл (по 50 семян в каждой) в термостате при температуре 37°C и относительной влажности воздуха 98 %. Указанную влажность воздуха в термостате создавали, помещая в нижней части камеры поддон с водой. Затем бутылочки с семенами герметично закрывали и оставляли в термостате при той же температуре для ускоренного старения. При такой постановке опыта отсчет времени старения начался, когда семена еще увлажнялись. Через определенные промежутки времени определяли всхожесть семян. Значения влажности, до которых надо увлажнить семена для проведения ускоренного старения, и, соответственно, время экспозиции в условиях повышенной влажности воздуха, подбирали для каждой культуры отдельно. Опыты проводили в двукратной повторности. Статистическую обработку результатов выполняли по Б. А. Доспехову (Доспехов, 1979).

Опыты проходили в период с 2007 по 2012 гг. Для сравнения процессов ускоренного и естественного старения семена пшеницы были оставлены на хранение в лабораторных условиях в бумажных пакетах.

Результаты и обсуждение

Озимая мягкая пшеница. На образце пшеницы сорта Мироновская 808, имевшем исходную влажность 9,8%, была прослежена динамика увлажнения семян в термостате при температуре 37°C и относительной влажности воздуха 98% (рис. 1).

Полученная информация позволила подготовить для опыта образцы пшеницы с различной влажностью семян: 11,7% (увлажнение в течение 5 часов) и 15,3% (увлажнение в течение 24 часов). В качестве контроля были взяты семена, не подвергавшиеся дополнительному увлажнению и имевшие влажность 9,8%. Проведенный опыт показал, что во время экспозиции в герметично закрытых бутылочках при температуре 37°C всхожесть образцов, имевших разную влажность, менялась по-разному: чем выше была влажность семян, тем быстрее происходило снижение их всхожести (рис. 2).

При значении влажности 15,3% (для пшеницы критическая влажность 14,5–15,5%) всхожесть снижалась слишком быстро, что не очень удобно для отслеживания динамики старения. При влажности семян 11,7% и ниже процесс растягивался более чем на два месяца. Следовательно, более подходящей для проведения ускоренного

старения должна быть влажность около 13%. Чтобы увлажнить до этого уровня семена пшеницы, имеющие в лабораторных условиях влажность 9–10%, достаточно 15–17 часов (см. рис. 1).

Затем были проведены опыты по сравнению динамики старения четырех образцов семян мягкой озимой пшеницы, выращенных в одном месте – на Кубанской опытной станции ВИР – в 2004 году, имеющих одинаковую влажность 13,5%, но различающихся по географическому происхождению (рис. 3).

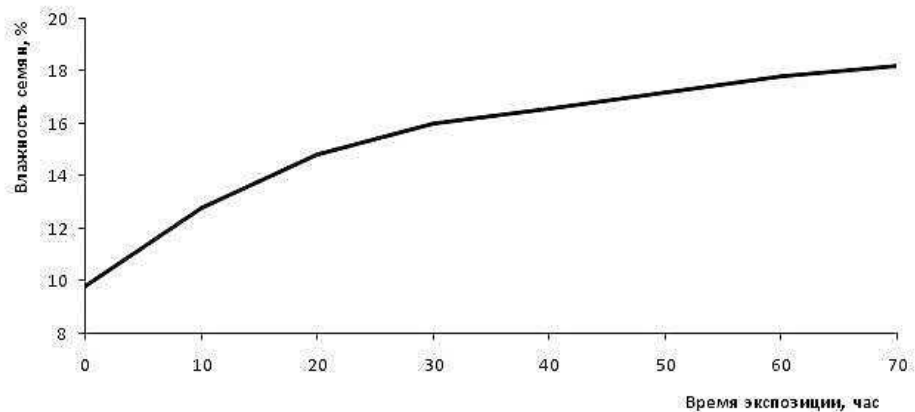


Рис. 1. Динамика увлажнения семян пшеницы сорта Мироновская 808

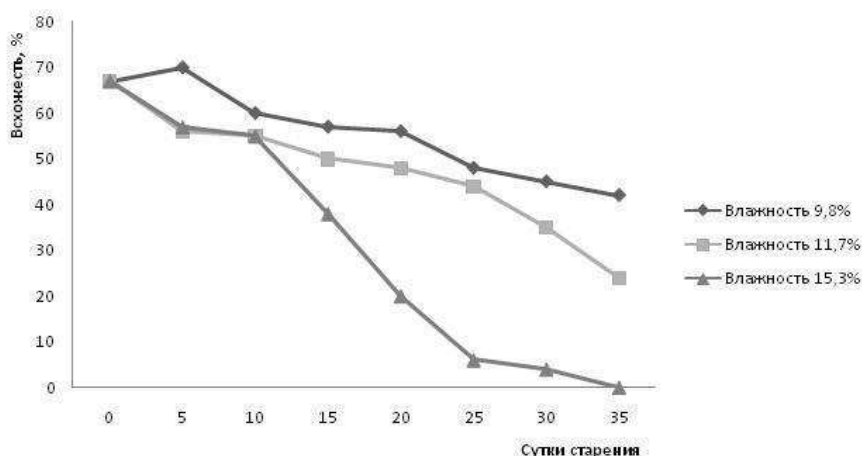


Рис. 2. Влияние влажности семян пшеницы Мироновская 808 на скорость их старения

Из рисунка 3 видно, что хотя исходная всхожесть образцов отличалась незначительно, старение их происходило с разной скоростью. Быстрее других потерял всхожесть образец пшеницы сорта Лютесценс 3192 (к-49563). Наиболее устойчив к воздействию экстремальных условий хранения оказался образец сорта Альбидум 525 (к-58546). Два других образца заняли промежуточное положение. По-видимому, различия в реакции на условия хранения можно объяснить генетическими особенностями образцов, их разным происхождением: сорт Лютесценс 3192 (к- 49563), происходит из Украины (Киевская область), Martonvasari 08-82 (к-58350) и Martonvasari 11-83 (к-58351) – из Венгрии, Альбидум 525 (к-58545) – из России (Самарская область), где часто бывают засухи.

Сравнение естественного старения семян при их хранении в лабораторных условиях с ускоренным старением показало соответствие результатов (табл. 1).

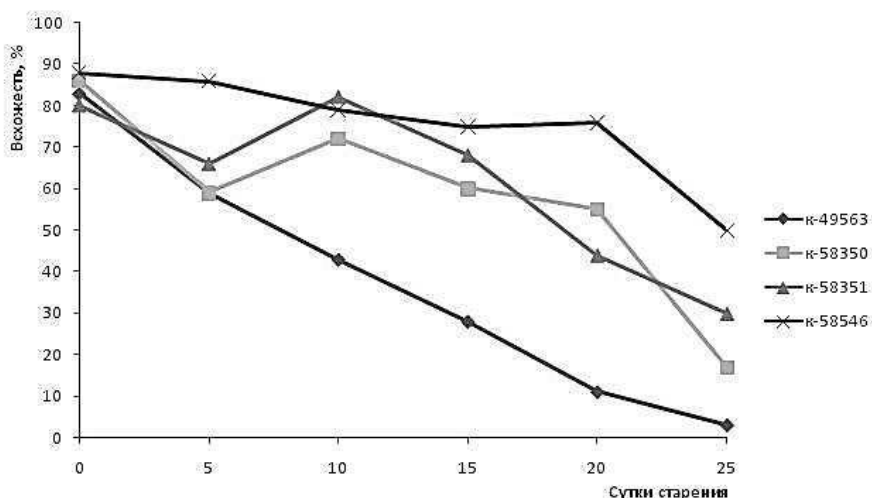


Рис. 3. Ускоренное старение семян пшеницы разного географического происхождения с влажностью 13,5%

Таблица 1. Изменение всхожести образцов семян озимой мягкой пшеницы, различающихся происхождением, при хранении в лабораторных условиях

Сорт	№ каталога	Происхождение	Всхожесть, %	
			2007 г.	2012 г.
Лютесценс 3192	49563	Украина, Киевская обл.	83±4	0
Martonvasari 08-82	58350	Венгрия	86±2	19±3
Martonvasari 11-83	58351	Венгрия	80±5	16±0

За 5 лет хранения в лабораторных условиях образец пшеницы сорта Лютесценс 3192, хуже других перенесший ускоренное старение, полностью потерял всхожесть, тогда как образцы сортов Martonvasari 08-82 и Martonvasari 11-83 сохранили всхожесть на уровне 16–19%.

В целом кривые снижения всхожести семян при подобранных нами условиях ускоренного старения были сходны с кривыми изменения жизнеспособности семян при длительном хранении (Жукова, Хорошайлов, 1981; Nagel, Börner, 2010).

Фасоль. Отработку методик ускоренного старения семян фасоли проводили на образцах семян, имевших влажность 13,5; 14,0 и 15,2% (рис. 4).

Исследование показало, что чем выше была влажность семян, тем быстрее проходило снижение их всхожести. При достижении критической влажности, которая для фасоли равна 15–16%, всхожесть снижалась слишком быстро. В этом случае сложно было заметить особенности старения образцов. Оптимальной для проведения ускоренного старения фасоли оказалась влажность семян 13,5%.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что динамика старения зависит не только от исходной всхожести, но и от особенностей образца. Образец № 1 имел более высокую исходную всхожесть, чем образец № 2, но снижение всхожести у первого в опытах с влажностью семян 14,0 и 15,2% происходило более резко, чем у второго. А в опытах с влажностью семян 13,5% к пятидесятому дню образец № 1

полностью потерял всхожесть, а образец № 2 имел всхожесть 18%. Вероятно, это связано с генетическими особенностями образцов. Семена второго образца имели более разнообразные морфологические признаки (размер, цвет), свидетельствующие о большем генетическом полиморфизме.

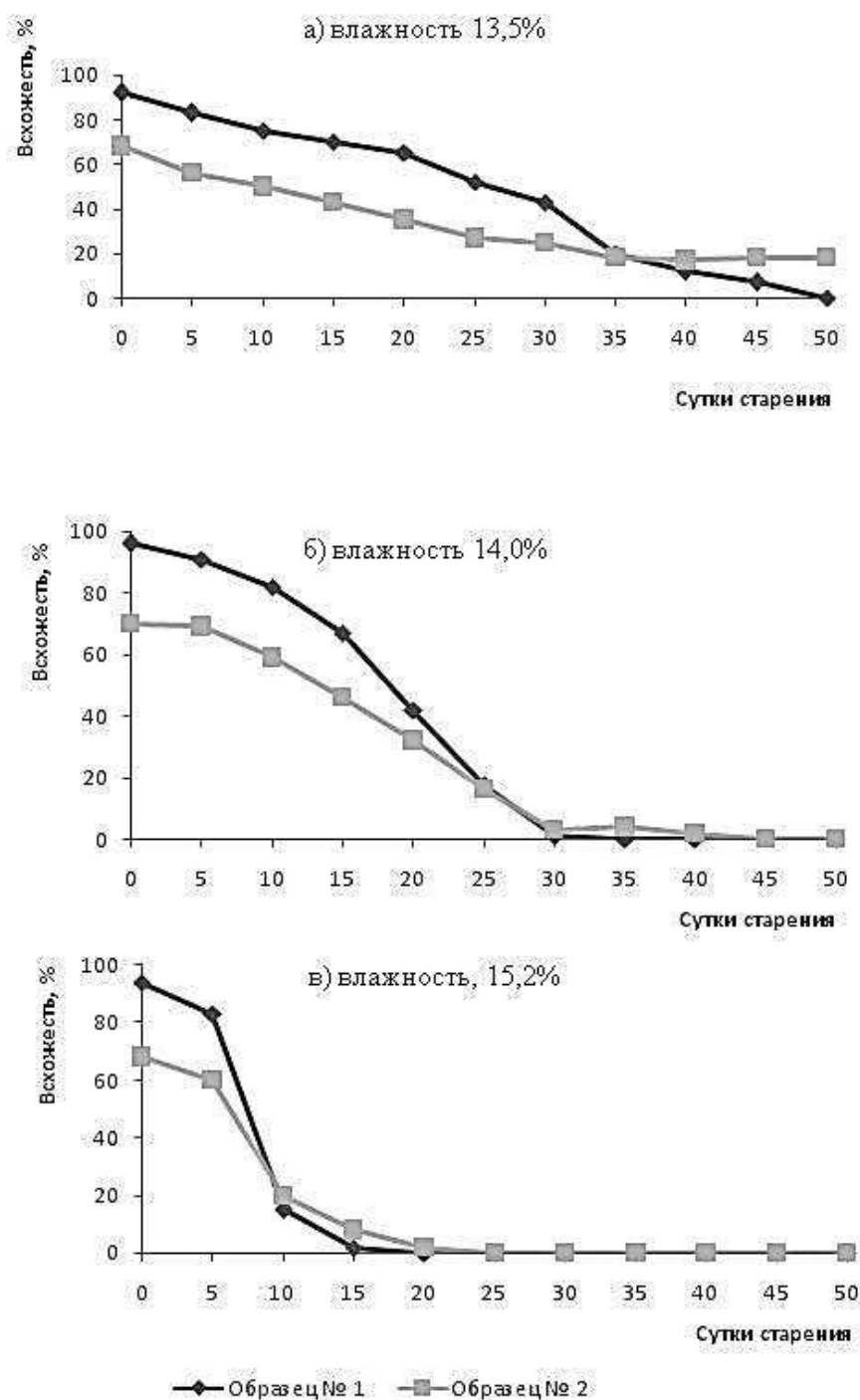


Рис. 4. Влияние влажности на скорость старения семян фасоли

Горох. Основываясь на результатах, полученных при отработке методики ускоренного старения семян фасоли, старение образцов гороха проводили, увлажнив семена до 13,0% (рис. 5).

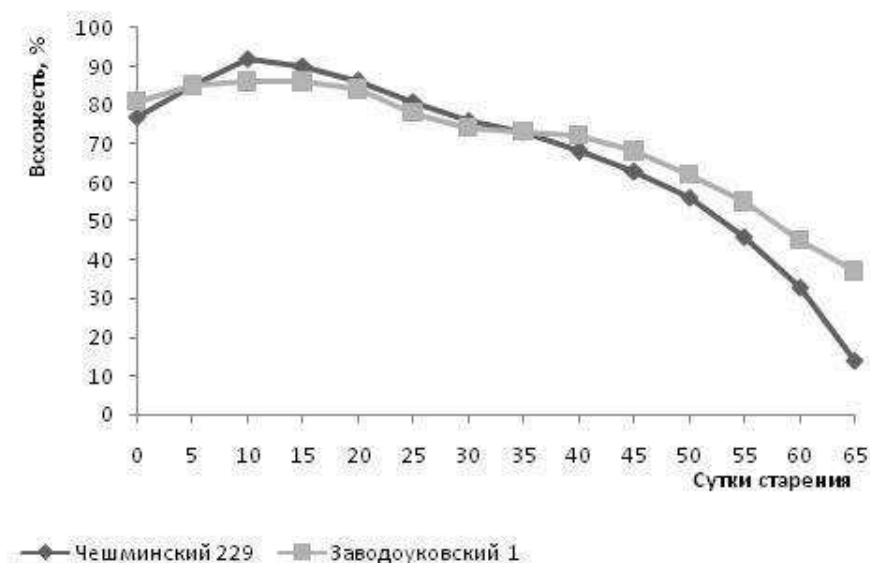


Рис. 5. Ускоренное старение семян гороха сортов различного хозяйственного назначения при влажности 13,0 %

Было показано, что ускоренное старение семян сортов, имеющих разное хозяйственное использование, протекает несколько по-разному: зерновой сорт Чешминский 229 теряет всхожесть быстрее, чем зерноукосный сорт Заводоуковский 1, что совпадает с наблюдением практиков.

Заключение

Полученные результаты показали, что время старения зависит не только от исходной всхожести и влажности семян, но и от видовых особенностей образцов. Для опытов по ускоренному старению семян мягкой озимой пшеницы, фасоли и гороха рекомендуется использовать влажность на 2–3% ниже критической и температуру 37 °С. Увлажнение семян проводить в открытых бутылочках. Когда необходимая влажность семян достигнута – а время увлажнения зависит от культуры – бутылочки герметично закрыть и продолжить старение. Чтобы более точно проследить динамику старения, желательно проводить определение всхожести не реже, чем один раз в неделю. Данный метод можно использовать для прогнозирования долговечности семян при длительном хранении.

Авторы чрезвычайно благодарны за предоставление материалов для исследований и консультации сотрудникам ВИР: О. П. Митрофановой, А. Г. Хакимовой, Т. В. Буравцевой, Е. В. Семеновой.

Литература

- Алексанян С. М. Государство и биоресурсы. СПб.: ВИР, 2003. 180 с.
 Алексейчук Г. Н. Сила роста семян зерновых культур и ее оценка методом ускоренного старения. Минск, 2009. 43 с.
 Баранова Л. С., Жукова Н. В. Динамика дыхательной активности и посевных качеств семян пшеницы при ускоренном старении // Сб. тр. по прикл. бот., ген. и сел.: [Селекция и генетика культурных растений на Кубани]. Л.: ВИР, 1984. Т. 89: С. 119–123.

- Беккер З. Э. Влияние аутоконсервации зерна пшеницы на его микрофлору // Ботанический журн. 1934. Т. 19. № 2. С. 126–140.
- ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести // Семена сельскохозяйственных культур. Методы анализа. М.: Стандартинформ, 2011. С. 35–64.
- ГОСТ 12041-82. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения влажности // Семена сельскохозяйственных культур. Методы анализа. М.: Стандартинформ, 2011. С. 107–114.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1979. 415 с.
- Жукова Н. В., Хорошайлов Н. Г. Методические указания по длительному хранению семян. Л., 1981. 85 с.
- Зайцев В. А., Баранова Л. С., Жукова Н. В. Физиолого-биохимический контроль качества семян зерновых культур в процессе их ускоренного старения // Бюлл. ВИР. 1984. Вып. 138. С. 36–38.
- Крокер В., Бартон Л. Физиология семян. М., 1955. 389 с.
- Лихачев Б. С., Мусорина Л. И., Шевченко З. Н., Витмер Л. Г., Зеленский Г. В. Использование экстремальных условий хранения семян в моделировании процессов их старения // Бюлл. ВИР. 1978. Вып. 77. С. 57–62.
- Робертс Е. Г. Жизнеспособность семян. М., 1978. 414 с.
- Савин В. Н., Архипов М. В., Гусакова Л. П. Жизнеспособность овощных семян при внутренних повреждениях // Аграрная наука. 1997. Вып. 2. С. 23–25.
- Хорошайлов Н. Г. Ответные реакции разнокачественных семян различных культур на условия хранения // Физиол.-биохим. пробл. семеноведения и семеноводства. Иркутск. 1973. Ч. 1. С. 93–99.
- Accelerated ageing test // Handbook of Vigour Test Methods. International Seed Testing Association. Zurich, 1995. P. 35–50.
- Delouche J. C., Baskin C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots // Seed Sci. and Technol. 1973. V. 1. № 2. P. 427–452.
- Justice O. L., Bass L. N. Principles and practices of seed storage. Washington, 1978. 289 p.
- Nagel M., Börner A. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions // Seed Science Research. 2010. № 20. P. 1–12.
- Nagel M., Rosenhauer M., Willner E., Snowdon R. J., Friedt W., Börner A. Seed longevity in oilseed rape (*Brassica napus* L.) – genetic variation and QTL mapping // Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 2011. V. 9. № 2. P. 260–263.
- Nagel M., Vogel H., Landjeva S., Buck-Sorlin G., Lohwasser U., Scholz U., Börner A. Seed conservation in ex situ genebanks – genetic studies on longevity in barley // Euphytica. 2009. V. 170. P. 5–14.
- Rehman Arif M. A., Nagel M., Neumann K., Kobiljski B., Lohwasser U., Börner A. Genetic studies of seed longevity in hexaploid wheat using segregation and association mapping approaches // Euphytica. 2012. V. 186. P. 1–13.
- Siddiqui S. U., Ali A., Chaudhary M. F. Germination behavior of wheat (*Triticum aestivum*) varieties to artificial ageing under varying temperature and humidity // Pak. J. Bot. 2008. V. 40. № 3. P. 1121–1127.
- Walters C., Wheeler L. M., Grotenhuis J. M. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristic // Seed Science Research. 2005. № 15. P. 1–20.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИ И ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫЕ ЛИНИИ ПШЕНИЦЫ В РАБОТАХ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕНЕТИКЕ ЗЛАКОВ[†]

Е. К. Хлесткина

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,
Новосибирск, Россия, e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

Резюме

Аллополиплоидная природа генома пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$, геномная формула AABBDD) позволила создать широкий спектр цитологически маркированных линий: нуллитетрасомных, дителосомных, делеционных, дополненных, замещенных и др. Созданные в прошедшие десятилетия для использования в цитогенетических и генетических исследованиях цитологически маркированные линии, а также генетически маркированные изогенные линии, сегодня находят новое применение. В данной работе рассматриваются основные направления и перспективы использования цитологически и генетически маркированных линий пшеницы в современных исследованиях в области молекулярной и функциональной генетики злаков.

Ключевые слова: пшеница, молекулярная генетика, функциональная генетика, делеционные линии, дителосомные линии, дополненные линии, замещенные линии, нуллитетрасомные линии, изогенные линии, интрогрессивные линии.

CYTOLOGICALLY AND GENETICALLY MARKED WHEAT LINES IN THE WORKS ON MOLECULAR AND FUNCTIONAL GENETICS OF CEREAL GRASSES

E. K. Khlestkina

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

Summary

Thanks to the allopolyploid nature of the common wheat genome (*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$, genome BBAADD), a wide range of cytologically marked lines such as nullitetrasonic, ditelosomic, deletion, addition, substitution, etc. has been created. Produced in recent decades for cytogenetic and genetic studies, today the cytologically marked lines as well as genetically marked isogenic lines find new application. The present paper reviews examples and prospects of the cytologically and genetically marked wheat lines application in molecular and functional genetic studies.

Key words: wheat, molecular genetics, functional genetics, deletion lines, ditelosomic lines, addition lines, substitution lines, nullitetrasonic lines, isogenic lines, introgression lines.

Введение

Хромосомный набор пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$, геном AABBDD) представлен 21 парой хромосом, которые относятся к 7 гомеологическим группам. Каждая группа включает три пары хромосом, имеющих общее происхождение и относящихся к геномам А, В и D, соответственно (Цитогенетика пшеницы и ее гибридов, 1971).

[†]Работа частично поддержана РФФИ (12-04-33027_мол-а-вед), Президиумом РАН (6.24) и грантом Президента РФ (МД-2615.2013.4).

Наличие гомеологичных хромосом, несущих в высокой степени сходную генетическую информацию, позволяет получать жизнеспособные растения пшеницы, у которых одна из пар хромосом отсутствует (нуллисомные линии), замещена парой гомологичных хромосом другого сорта (линии с межсортным замещением хромосом) или парой гомеологичных хромосом того же сорта пшеницы (нуллитетрасомные линии), или парой ортологичных хромосом другого вида или рода из трибы злаков *Triticeae* (чужеродно-замещенные линии), представлена дителосомной парой (дителосомные линии), имеет протяженные делеции (делеционные линии) или несет участки интрогрессии чужеродного генетического материала (интрогрессивные линии). Благодаря «буферному» действию аллополиплоидного генома пшеницы возможно также получение относительно стабильных линий, несущих помимо полного хромосомного набора пшеницы добавленную пару хромосом (или дителосомиков) другого вида или рода из трибы злаков *Triticeae* (чужеродно-дополненные линии).

Вслед за первой коллекцией анеуплоидных линий пшеницы сорта Chinese Spring (Sears, 1944, 1946, 1953), были получены наборы различных цитологически маркированных линий пшеницы. Их использование позволило определить хромосомную локализацию десятков генов пшеницы и ее сородичей, определяющих фенотипические отличия (Цитогенетика пшеницы и ее гибридов, 1971). Было создано Европейское сообщество по анеуплоидам пшеницы (EWAC – European Wheat Aneuploid Cooperation), регулярные совещания которого проводились, начиная с 1967 г. (<http://www.ewac.eu/history.htm>), что позволяло координировать работу по созданию и использованию серий цитологически маркированных линий. Однако с накоплением данных по хромосомной локализации генов эффективность использования цитологически маркированных линий для извлечения новой информации на основе анализа фенотипа существенно снизилась, их потенциал, казалось, был исчерпан, интерес к данному направлению работ угас, а совещания EWAC в начале и середине 1990-х гг. собирали крайне малое количество участников.

Однако с развитием методов молекулярной генетики открылся новый потенциал использования цитологически маркированных линий пшеницы. Стало ясно, что нуллитетрасомные, дителосомные и дополненные линии незаменимы для определения хромосомной локализации ДНК-маркеров и кодирующих нуклеотидных последовательностей, а также для выделения нуклеотидных последовательностей индивидуальных гомеологичных копий генов (см. примеры в табл. 1). Интрогрессивные линии, а также генетически маркированные изогенные линии оказались полезными для молекулярного маркирования и картирования генов (см. примеры в табл. 1).

Сохранившиеся коллекции цитологически и генетически маркированных линий вновь стали востребованными. Кроме того, стали создаваться новые коллекции линий, в частности, были созданы делеционные линии пшеницы (Endo, Gill, 1996), пшенично-эгилопсные дополненные (Friebe et al., 1993, 1995, 2000) и интрогрессивные (Pestsova et al., 2006; Iqbal et al., 2007) линии.

Линии с межсортным замещением хромосом стали активно использоваться для создания рекомбинантных по одной хромосоме линий (SCRLs – single chromosome recombinant lines), эффективных для анализа количественных признаков (см. примеры в табл. 1).

Дителосомные и чужеродно-дополненные линии оказались неоценимы для сортировки хромосом злаков методом проточной цитофлуориметрии (Doležel et al., 2012), в том числе, с целью получения хромосом-специфичных ВАС-библиотек.

Кроме того, в последние годы появляется все больше свидетельств в пользу перспективы использования цитологически и генетически маркированных линий пшеницы для установления функциональной роли отдельных генов, сравнительного анализа активности генов на чужеродном генетическом фоне и определения функциональных различий между разными аллелями (см. примеры в табл. 2).

Таблица 1. Примеры использования цитогенетически и генетически маркированных линий пшеницы для сортировки хромосом, локализации, картирования и выделения генов злаковых растений

Линии (ссылка)	Цель использования	Ссылка
Нуллитетрасомные и дителосомные линии		
Нуллитетрасомные (Sears, 1953) и дителосомные (Sears, 1944, 1946) линии сорта Chinese Spring (CS) мягкой пшеницы (<i>T. aestivum</i>)	Сортировка хромосом пшеницы методом проточной цитофлуориметрии	Gill et al., 1999
	Локализация ДНК-маркеров	Chao et al., 1989; Röder et al., 1995, 1998; Somers et al., 2003; Qi et al., 2004; Sourdille et al., 2004
	Локализация экспрессирующихся нуклеотидных последовательностей	Qi et al., 2004
	Локализация генов пшеницы на основе известных нуклеотидных последовательностей или по гомологии	Li et al., 1999; Himi, Noda, 2004; Boisson et al., 2005; Nomura et al., 2005; Appleford et al., 2006; Shitsukawa et al., 2007; Khlestkina et al., 2008, 2010a
	Локализация генов на основе сравнительного анализа протеома	Islam et al., 2002
	Клонирование индивидуальных гомеологичных копий генов пшеницы	Терещенко, 2012
Делеционные линии		
Делеционные линии сорта CS мягкой пшеницы (Endo, Gill, 1996)	Картирование ДНК-маркеров	Sourdille et al., 2004
	Картирование экспрессирующихся нуклеотидных последовательностей	Qi et al., 2004
	Картирование генов пшеницы с известной нуклеотидной последовательностью	Himi, Noda, 2004; Boisson et al., 2005; Nomura et al., 2005; Khlestkina et al., 2008; Терещенко, 2012
	Картирование генов пшеницы на основе сравнительного анализа протеома	Islam et al., 2003; Ma et al., 2012
Дополненные линии		
Дополненные пшенично-ржаные линии <i>T. aestivum</i> CS+ <i>Secale cereale</i> Imperial (Driscoll, Sears, 1971)	Сортировка хромосом ржи методом проточной цитофлуориметрии	Kubaláková et al., 2003

Продолжение таблицы

Линии (ссылка)	Цель использования	Ссылка
	Локализация ДНК-маркеров ржи	Chao et al., 1989; Khlestkina et al., 2004; Bolibok-Brągoszewska et al., 2009; Benito et al., 2010
	Локализация нуклеотидных последовательностей генов ржи	Khlestkina et al., 2009a
Дополненные пшенично-ячменные линии <i>T. aestivum</i> CS + <i>Hordeum vulgare</i> Betzes (Islam et al., 1981; Islam, 1983)	Сортировка хромосом ячменя методом проточной цитофлуориметрии	Suchánková et al., 2006
	Локализация генов на основе сравнительного анализа транскриптома	Cho et al., 2006; Bilgic et al., 2007
	Локализация ДНК-маркеров ячменя	Chao et al., 1989; Pillen et al., 2000
Дополненные пшенично-эгилопсные линии <i>T. aestivum</i> CS+ <i>Aegilops speltoides</i> (Friebe et al., 2000)	Локализация ДНК-маркеров <i>Ae. speltoides</i>	Dobrovolskaya et al., 2011
Замещенные линии и полученные на их основе рекомбинантные по одной хромосоме линии (SCRLs)		
<i>T. aestivum</i> CS (Hope 7B)/CS (Law, Wolfe, 1966)	Картирование гена, детерминирующего чувствительность к яровизации	(Law, Wolfe, 1966) Chao et al., 1989
<i>T. aestivum</i> CS (<i>T. spelta</i> 7D)/CS (Simon et al., 2005, 2010)	Картирование локусов, определяющих устойчивость к септориозу	Simón et al., 2010
<i>T. aestivum</i> Favorit (F26-70 7B)/Favorit (Giura, Ittu, 1986; Khlestkina et al., 2009b)	Картирование локусов, контролирующих чувствительность к фотопериоду и содержание белка в зерне	Khlestkina et al., 2009b
<i>T. aestivum</i> CS (Cheyenne 5B)/CS, Hobbit Sib(CS 5BL)/Hobbit Sib (Tyth et al., 2003)	Картирование локусов, детерминирующих сроки цветения и морозоустойчивость	Tóth et al., 2003
Интрогрессивные линии		
<i>T. aestivum</i> C29- <i>T. timopheevii</i> (Leonova et al., 2004)	Определение хромосомной локализации и картирование генов, детерминирующих различные признаки, а также генов, кодирующих ферменты	Леонова и др., 2008; Терещенко, 2012
<i>T. aestivum</i> CS- <i>Ae. tauschii</i> (Pestsova et al., 2006)		Pestsova et al., 2006
<i>T. aestivum</i> Alcedo- <i>Ae. markgrafii</i> (Iqbal et al., 2007)		Iqbal et al., 2007
<i>T. aestivum</i> C29- <i>T. Timopheevii</i> / <i>T. aestivum</i> Родина- <i>Ae. speltoides</i> (Tereshchenko et al., 2012a)	Выявление и локализация комплементарных генов, детерминирующих окраску перикарпа	Tereshchenko et al., 2012a

Линии (ссылка)	Цель использования	Ссылка
Изогенные линии		
Изогенные линии на основе сорта <i>T. aestivum</i> Саратовская 29 (Arbuzova et al. 1998) и Новосибирская 67 (Коваль, 1997)	Установление хромосомной и внутривхромосомной локализации генов, детерминирующих признаки	Хлесткина и др., 2000; Tereshchenko et al., 2012b

Нуллитетрасомные, дителосомные и делеционные линии

Нуллитетрасомные (Sears, 1953), дителосомные (Sears, 1944, 1946) и делеционные (Endo, Gill, 1996) линии сорта Chinese Spring (CS) мягкой пшеницы в последние годы широко используются для локализации ДНК-маркеров и генов с точностью до хромосомы, хромосомного плеча, или определенного участка хромосомного плеча (делеционного района; метод – делеционное картирование), соответственно (см. табл. 1).

В зависимости от типа ДНК-маркеров сравнительный анализ нуллитетрасомных, дителосомных и/или делеционных линий осуществляется при использовании метода ПЦР с маркер-специфичными праймерами (SSR-маркеры – Röder et al., 1995, 1998; SNP-маркеры – Somers et al., 2003) или методом гибридизации с радиоактивно меченым зондом (RFLP-маркеры – Chao et al., 1989).

Кроме того, нуллитетрасомные, дителосомные и делеционные линии используются в настоящее время для локализации генов (см. табл. 1) на основе известной нуклеотидной последовательности изучаемого гена (Himi, Noda, 2004; Boisson et al., 2005; Nomura et al., 2005; Appleford et al., 2006; Shitsukawa et al., 2007; Khlestkina et al., 2008, 2010 а) или при использовании гомологичной последовательности (Li et al., 1999; Qi et al., 2004), или на основе анализа протеома (Islam et al., 2002).

Если нуклеотидная последовательность изучаемого гена пшеницы известна, как правило, к этой последовательности подбираются специфичные праймеры для ПЦР, которые затем используются для амплификации геномной ДНК нуллитетрасомных и дителосомных линий. Так, например, была определена локализация трех гомеологичных генов, кодирующих фермент глутаматсинтазу, в коротких плечах хромосом 2A, 2B и 2D, в делеционных районах 2AS5, 2BS1 и 2DS5 (Boisson et al., 2005).

При отсутствии данных о нуклеотидной последовательности изучаемого гена пшеницы геномная ДНК цитологически маркированных линий может быть обработана эндонуклеазами рестрикции и затем, при использовании метода блот-гибридизации по Саузерну, проанализирована с помощью радиоактивно меченого зонда, содержащего нуклеотидную последовательность гена другого вида, кодирующего аналогичный белковый продукт или детерминирующего схожий признак. Так, Li et al. (1999) определили хромосомную локализацию 167 генов защитного ответа у пшеницы, используя нуклеотидные последовательности ячменя, риса и кукурузы.

Qi et al. (2004) применили аналогичный подход, основанный на блот-гибридизации геномной ДНК нуллитетрасомных, а также дителосомных и делеционных линий, но использовали в качестве зондов клонированные фрагменты экспрессирующей фракции генома пшеницы. Для того чтобы избежать локализации фрагментов, повторяющихся в библиотеках кДНК, они создали выборку уникальных зондов на основе предварительного анализа отсекаемых концевых участков встроенных фрагментов кДНК (так называемых EST – expressed sequence tags). В результате им удалось картировать около 16 000 EST.

Другой подход заключается в локализации/картировании неизвестных структурных или регуляторных генов по различиям, выявляемым в протеоме нуллитетрасомных, дителосомных и/или делеционных линий пшеницы (Islam et al., 2002, 2003; Ma et al., 2012).

Помимо локализации ДНК-маркеров и генов нуллитетрасомные и дителосомные линии получили специфическое применение в работах, направленных на секвенирование генома пшеницы. В настоящее время известно, что собрать полногеномную последовательность для объекта с таким сложным геномом, как пшеница, можно только путем секвенирования отдельных фракций генома. Для этого требуется создание хромосом-специфичных ВАС-библиотек на основе отсортированных хромосом. В 1999 г. Gill et al. (1999) показали, что решить проблему сортировки близких по размеру хромосом пшеницы можно с помощью дителосомных линий. Сортировка хромосом данных линий при использовании метода проточной цитофлуориметрии позволяет выделять отдельные плечи хромосом пшеницы, которые затем могут быть использованы для создания хромосом-специфичных ВАС-библиотек (Doležel et al., 2012).

Применение нуллитетрасомных линий может существенно облегчить выделение и секвенирование нуклеотидных последовательностей отдельных гомеологичных копий генов. Гомеологичные копии одного и того же гена отличаются друг от друга нуклеотидными заменами HSV (homoeologous sequence variant). Для амплификации нуклеотидной последовательности отдельной копии на основе ПЦР необходимо подобрать праймеры таким образом, чтобы они позволяли различать сразу три копии. При проведении ПЦР на нуллитетрасомной линии достаточно, чтобы праймеры различали только 2 гомеологичные копии гена; подобрать такие праймеры значительно легче. При использовании этого подхода была определена нуклеотидная последовательность гена *Chi-D1*, кодирующего фермент халконфлаванонизомеразу пшеницы (Терещенко, 2012).

Еще одну интересную область применения нуллитетрасомных линий нашел Bottley et al. (2006) (табл. 2). Используя метод ОТ-ПЦР и SSCP-анализ (single strand conformation polymorphism – метод выявления однонуклеотидных полиморфизмов за счет различий конформации одноцепочечной ДНК ПЦР-фрагментов), Bottley et al. (2006) сравнил транскрипционную активность гомеологичных копий генов и установил, что до 30% гомеологичных генов транскрипционно неактивны. Это исследование явилось одной из основополагающих работ, направленных на понимание механизмов коадаптации геномов в аллополиплоидном ядре пшеницы.

Чужеродно-дополненные линии

Подобно тому как нуллитетрасомные и дителосомные линии используются для локализации ДНК-маркеров и генов пшеницы, чужеродно-дополненные линии пшеницы применяются для локализации ДНК-маркеров и генов других видов пшеницы, в первую очередь, ячменя (Chao et al., 1989; Pillen et al., 2000; Cho et al., 2006; Bilgic et al., 2007), ржи (Chao et al., 1989; Khlestkina et al., 2004; Bolibok-Bragoszewska et al., 2009; Khlestkina et al., 2009a; Benito et al., 2010) и эгилопсов (Dobrovolskaya et al., 2011). При этом локализация генов осуществляется как на основе предварительно выделенной нуклеотидной последовательности изучаемого гена (Khlestkina et al., 2009a), так и посредством сравнительного анализа транскриптома (Cho et al., 2006; Bilgic et al., 2007). В последнем случае используются микрочипы. Отличия, выявленные между линиями, несущими различные хромосомы/плечи, позволяют связать транскрибируемый ген с определенной хромосомой или плечом. Так, например, была установлена хромосомная локализация более тысячи генов ячменя (Bilgic et al., 2007).

Вслед за Gill et al. (1999), который продемонстрировал, что с помощью цитометрического анализа дителосомных линий можно выделять отдельные плечи

хромосом пшеницы, было показано, что чужеродно-дополненные дителосомные линии могут быть использованы для выделения отдельных плеч других видов злаков трибы Triticeae и последующего создания хромосом-специфичных ВАС-библиотек (Kubaláková et al., 2003; Suchánková et al., 2006; Doležel et al., 2012).

Чужеродно-дополненные линии пшеницы использовались также для исследования взаимодействия чужеродных генов на уровне регуляции транскрипции (табл. 2). Было показано, что регуляторные гены *Rc* (*red coleoptile*) ржи и эгилопсов способны активировать структурные гены пшеницы в coleoptile пшенично-ржаной и пшенично-эгилопсных дополненных линий (Khlestkina, 2010).

Чужеродно-замещенные линии и линии с межсортовым замещением хромосом

Линии пшеницы с межсортовым замещением хромосом использовались ранее не только для хромосомной локализации генов, но и для генетического анализа сложных признаков, контролируемых несколькими генами. Например, во многих сортах пшеницы чувствительность к яровизации контролируется более чем одним доминантным геном (Stelmakh, 1987). С помощью замещенных линий была определена локализация различных генов *Vrn* (*Vernalization sensitivity*), в том числе локализация гена *Vrn5* с помощью замещенной линии CS(Hope 7B) (Law, Wolfe, 1966). Для картирования этого и других генов в хромосоме 7B Law и Wolfe (1966) создали на основе сорта CS и замещенной линии CS(Hope 7B) первые линии SCRLs, содержащие рекомбинантные участки только в одной хромосоме (в данном случае 7B).

В настоящее время линии пшеницы с межсортовым замещением хромосом и полученные на их основе рекомбинантные линии типа SCRLs служат для молекулярно-генетического картирования отдельных локусов, контролирующих сложные признаки, и эффективного анализа количественных признаков (см. табл. 1). В отличие от *QTL*-анализа F₂-популяций, полученных путем скрещивания сортов, *QTL*-анализ рекомбинантных по одной хромосоме линий позволяет более эффективно осуществлять генетический анализ сложных признаков, а именно: выявлять отдельные локусы в отсутствие влияния аллелей донора признака в других локусах, контролирующих тот же самый признак, и, таким образом, извлекать более точную информацию о действии отдельно взятых локусов на признак, а также информацию о взаимодействии отдельных генов и т. д.

Так, например, анализ SCRLs CS(Cheyenne 5B)/CS позволил установить локализацию генов *Fr-B1* и *Vrn-B1*, детерминирующих морозостойкость и чувствительность к яровизации, соответственно, в длинном плече хромосомы 5B вблизи маркеров Xgwm639 (*Fr-B1*) и Xgwm639 (*Vrn-B1*) (Tyth et al., 2003). *QTL*-анализ SCRLs *T. aestivum* CS(*T. spelta* 7D)/CS выявил в хромосоме 7D два локуса устойчивости к септориозу: в плече 7DS – локус, определяющий устойчивость взрослых растений, а в прицентромерном районе – локус, контролирующий устойчивость на стадии проростков (Simon et al., 2010). Анализ SCRLs Favorit (F26-70 7B)/Favorit позволил выявить новый ген, детерминирующий чувствительность к фотопериоду, и локус, определяющий содержание белка в зерне, в коротком плече хромосомы 7B вблизи маркера Xgwm537 (Khlestkina et al., 2009b).

Линии пшеницы с межсортовым замещением хромосом сыграли роль в установлении функции генов, детерминирующих окраску некоторых органов пшеницы (Himi et al., 2005; Khlestkina et al., 2010b), позволили исследовать взаимодействие гомеологичных структурных и регуляторных генов пшеницы (Khlestkina et al., 2008), выявить множественный аллелизм гена *Rc* (*red coleoptile*) на уровне транскрипции (Khlestkina et al., 2010b).

**Таблица 2. Примеры использования генетических линий пшеницы
для исследования функциональной активности генов**

Линии (ссылка)	Цель использования	Ссылка
Нуллитетрасомные линии		
Нуллитетрасомные (Sears, 1953) линии сорта <i>T. aestivum</i> Chinese Spring (CS)	Сравнительный анализ транскрипционной активности гомеологичных генов пшеницы	Bottley et al., 2006
Дополненные линии		
<i>T. aestivum</i> CS+ <i>S. cereale</i> Imperial (Driscoll, Sears, 1971)	Исследование эффективности транскрипции структурных генов пшеницы, активируемых регуляторными генами других видов	Khlestkina, 2010
<i>T. aestivum</i> CS+ <i>Ae.longissima</i> , (Friebe et al., 1993)		
<i>T. aestivum</i> CS+ <i>Ae. searsii</i> (Friebe et al., 1995)		
<i>T. aestivum</i> CS+ <i>Ae. speltoides</i> (Friebe et al., 2000)		
Чужеродно замещенные линии		
<i>T. aestivum</i> Саратовская 29 (<i>S. cereale</i> Онохойская) (Силкова и др., 2006)	Исследование транскрипционной активности структурного гена ржи <i>F3h</i> на генетическом фоне пшеницы	Khlestkina et al., 2009a
<i>T. aestivum</i> Пиротрикс 28 (<i>H. marinum</i>) (Трубачеева и др., 2008)	Исследование эффективности транскрипции структурных генов пшеницы, активируемых регуляторными генами других видов	Khlestkina, 2010
<i>T. aestivum</i> CS (<i>Ae. tauschii</i>) (McFadden, Sears, 1947)		
Линии пшеницы с межсортовым замещением хромосом		
CS(Hope) (Kuspira, Unrau, 1958)	Установление функции генов, детерминирующих морфологические признаки, исследование взаимодействия гомеологичных структурных и регуляторных генов, выявление множественного аллелизма на уровне транскрипции	Himi et al., 2005; Khlestkina et al., 2008, 2010b; Khlestkina, 2010
Саратовская 29 (Yanetzki Probat) (Gaidalenok et al., 2005)		
Интрогрессивные линии (с единичными интрогрессиями)		
<i>T.aestivum</i> CS- <i>Ae. tauschii</i> (Pestsova et al., 2006)	Установление роли генов, детерминирующих окраску различных органов пшеницы, в регуляции транскрипции структурных генов биосинтеза флавоноидных пигментов	Khlestkina et al., 2008; Khlestkina, 2010
Изогенные линии пшеницы		
Линии на основе сорта Саратовская 29 (Arbuzova et al., 1998)	Установление роли генов, детерминирующих окраску различных органов пшеницы, в регуляции транскрипции структурных генов биосинтеза флавоноидных пигментов	Himi et al., 2005; Khlestkina, 2010; Tereshchenko et al., 2013
Линии на основе сорта Новосибирская 67 (Коваль, 1997)		
Линии на основе сорта Безостая 1 (Efremova et al., 2011)	Сравнительная оценка транскрипции разных аллелей гена <i>Vrn-B1</i> , определяющего тип развития и сроки колошения пшеницы	Shcherban et al., 2013

Чужеродно-замещенные линии наряду с чужеродно-дополненными линиями пшеницы использовались для исследования взаимодействия структурных и регуляторных чужеродных генов на уровне регуляции транскрипции (см. табл. 2). В целом при использовании и дополненных, и замещенных линий было показано, что экспрессия структурного гена пшеницы тем слабее, чем более далек от пшеницы вид-донор регуляторного гена (Khlestkina, 2010).

Интрогрессивные и изогенные линии

Сравнительный анализ линий пшеницы мягкой, несущих различные участки интрогрессии генетического материала от других видов злаков, позволяет определять хромосомную и внутрихромосомную локализацию генов, детерминирующих различные признаки, переданные от видов-доноров (см. табл. 1). Так, например, создание и анализ линий *T. aestivum* CS-*Ae. tauschii* с интрогрессиями *Ae. tauschii* в D-геном мягкой пшеницы (Pestsova et al., 2006) позволили выявить 17 локусов, детерминирующих шесть количественных признаков: время цветения (2DS, 5DL, 6DS, 6DL), массу зерна с колоса (1DS, 2DL, 3DS, 3DL, 5DL, 7DS), длину колоса (2DS), число колосков (3DL, 5DL), высоту растения (5DL, 6DS, 6DL) и фертильность (5DL).

Локус, определяющий устойчивость к бурой ржавчине, был выявлен в дистальной области короткого плеча хромосомы 2A интрогрессивной линии пшеницы *T. aestivum*-*Ae. markgrafii* (Iqbal et al., 2007). Анализ интрогрессивных линий *T. aestivum*–*T. timopheevii* позволил картировать два локуса устойчивости к бурой ржавчине: главный локус в длинном плече хромосомы 5B и минорный локус в длинном плече хромосомы 2A (Леонова и др., 2008), а также картировать в длинном плече хромосомы 5B ген, кодирующий фермент халконфлаванонизомеразу, участвующую в биосинтезе флавоноидных соединений (Терещенко, 2012).

Признак антоциановой окраски перикарпа зерна контролируется у мягкой пшеницы комплементарными генами *Pp1* и *Pp3* (Dobrovolskaya et al., 2006). У диплоидных предков аллополиплоидной пшеницы или у тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii* антоциановая окраска перикарпа не описана, однако с помощью интрогрессивной линии *T. aestivum*–*T. timopheevii*/*T. aestivum*–*Ae. speltoides* удалось показать, что функционально активные доминантные аллели отдельных генов *Pp* (*Purple pericarp*) существуют и у данных видов (Tereshchenko et al., 2012a).

Изогенные линии пшеницы, также как интрогрессивные, могут использоваться для уточнения хромосомной и внутрихромосомной локализации генов. Так, например, использование изогенных линий пшеницы позволило уточнить внутрихромосомную локализацию генов, детерминирующих окраску колосковых и цветковых чешуй, относительно микросателлитных маркеров: *Bg* (*Black glume*) вблизи маркера Xgwm136 в дистальной области хромосомы 1AS и *Rg1* (*Red glume*) вблизи маркера Xgwm550 в дистальной области хромосомы 1BS (Хлесткина и др., 2000). Микросателлитный анализ изогенных линий, различающихся по окраске перикарпа, позволил впервые выявить ген *Pp-D1* в хромосоме 7DS мягкой пшеницы и установить его точную локализацию: вблизи центромеры между маркерами Xgwm044 и Xgwm676 (Tereshchenko et al., 2012b).

Изогенные линии и линии с единичными интрогрессиями являются ценным материалом для исследования функциональной активности генов/аллелей и выяснения функциональной роли генов. Так, например, с помощью сравнительного исследования транскрипционной активности генов биосинтеза флавоноидов в колосковых чешуях изогенных и интрогрессивных линий, несущих различные аллели в локусах *Bg* и *Rg*, впервые удалось установить, что гены *Bg* и *Rg*, детерминирующие черную и красную окраску колосковых и цветковых чешуй пшеницы, по всей вероятности, кодируют факторы регуляции транскрипции структурных генов биосинтеза флавоноидных пигментов флавофенов (Khlestkina, 2010).

Аналогичным образом было установлено, что гены пшеницы, детерминирующие антоциановую окраску различных частей растения, являются тканеспецифичными

регуляторными генами, то есть аллельные различия в них предопределяют различную активность структурных генов биосинтеза антоцианов в соответствующих органах (Khlestkina et al., 2008; Tereshchenko et al., 2013).

С помощью сравнительного транскрипционного анализа изогенных линий удалось выявить функциональные различия между аллелями гена *Vrn-B1*, определяющего тип развития и сроки колошения пшеницы (Shcherban et al., 2013).

В настоящее время актуальным направлением генетики пшеницы является исследование молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе формирования того или иного признака, и, несомненно, именно изогенные линии и линии с единичными интрогрессиями являются наиболее подходящим материалом для решения подобных задач при использовании методов сравнительной транскриптомики, протеомики и метаболомики.

Литература

- Коваль С. Ф. Каталог изогенных линий яровой мягкой пшеницы Новосибирская 67 и принципы их использования в эксперименте // Генетика. 1997. Т. 33. С. 1168–1173.
- Леонова И. Н. и др. Генетический анализ и локализация локусов, контролирующей устойчивость интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* к листовой ржавчине // Генетика. 2008. Т. 44. С. 1652–1659.
- Силкова О. Г. и др. Создание пшенично-ржаных замещенных линий с идентификацией хромосомного состава кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. С. 793–802.
- Терещенко О. Ю. Генетические основы формирования признаков антоциановой окраски у изогенных и интрогрессивной линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): Дисс. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2012. 139 с.
- Трубачеева Н. В. и др. Получение и изучение с применением комплекса методов молекулярного и цитогенетического анализа аллоплазматических эуплоидных ($2n=42$) и телоцентрически дополненных линий ($2n=42+2t$) (*H. marinum* subsp. *gussoneanum*) - *T. aestivum* // Генетика. 2008. Т. 44. С. 81–89.
- Хлесткина Е. К. и др. Анализ изогенных линий мягкой пшеницы, несущих доминантные аллели генов *Bg*, *Hg* и *Rg1*, с помощью микросателлитных и белковых маркеров // Генетика. 2000. Т. 36. С. 1374–1379.
- Цитогенетика пшеницы и ее гибридов / ред. : П.М. Жуковский, В.В. Хвостова. М.: Наука, 1971. 285 с.
- Arbuzova V. S. et al. Development of near-isogenic lines of the common wheat cultivar ‘Saratovskaya 29’ // Cereal Res. Commun. 1998. V. 26. P. 39–46.
- Benito C. et al. From the rye *Alt3* and *Alt4* aluminum tolerance loci to orthologous genes in other cereals // Plant Soil. 2010. V. 327. P. 107–120.
- Bilgic H. et al. Mapping barley genes to chromosome arms by transcript profiling of wheat-barley ditelosomic chromosome addition lines // Genome. 2007. V. 50. P. 898–906.
- Boisson M. et al. Partial sequences of nitrogen metabolism genes in hexaploid wheat // Theor. Appl. Genet. 2005. V. 110. P. 932–940.
- Bolibok-Brqgoszewska H. et al. DArT markers for the rye genome – genetic diversity and mapping // BMC Genomics. 2009. P. 10. C. 578.
- Bottley A. et al. Homoeologous gene silencing in hexaploid wheat // Plant J. 2006. V. 47. P. 897–906.
- Chao S. et al. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes // Theor. Appl. Genet. 1989. V. 78. P. 495–504.
- Cho S. et al. Transcriptome analysis and physical mapping of barley genes in wheat-barley chromosome addition lines // Genetics. 2006. V. 172. P. 1277–1285.
- Dobrovolskaya O. B. et al. Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Euphytica. 2006. V. 150. P. 355–364.
- Dobrovolskaya O. et al. Microsatellite mapping of Ae. *speltoides* and map-based comparative analysis of the S, G, and B genomes of *Triticeae* species. Theor. Appl. Genet. 2011. V. 123. P. 1145–1157.
- Doležel J. et al. Chromosomes in the flow to simplify genome analysis // Funct. Integr. Genomics. 2012. V. 12. P. 397–416.

- Driscoll C. J., Sears E. R. Individual addition of the chromosomes of 'Imperial' rye to wheat // *Agron. Abstr.* 1971. P. 6.
- Efremova T. T. et al. Multiple allelism in the Vrn-B1 locus of common wheat // *Cereal Res. Commun.* 2011. V. 39. P. 12–21.
- Endo T. R., Gill B. S. The deletion stocks of common wheat // *J. Hered.* 1996. V. 87. P. 295–307.
- Friebe B. et al. Standard karyotype of *Triticum longissimum* and relationship with *T. aestivum* // *Genome.* 1993. V. 36. P. 731–742.
- Friebe B. et al. Standard karyotype of *Triticum searsii* and its relationship with other S-genome species and common wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1995. V. 91. P. 248–254.
- Friebe B. et al. Development of a complete set of *Triticum aestivum*-*Aegilops speltoides* chromosome addition lines // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 101. P. 51–58.
- Gaidalenok R. F. et al. Development and use of lines with substituted chromosomes in Saratovskaya 29/Janetzki's Probat // *EWAC Newsl.* 1995. V. 9. P. 128–131.
- Gill K. S. et al. Isolating individual wheat (*Triticum aestivum*) chromosome arm by flow cytometric analysis of ditelosomic lines // *Theor. Appl. Genet.* 1999. V. 98. P. 1248–1252.
- Giura A., Ittu G. Genetic analysis of protein content in the wheat line F26-70 using whole chromosome substitutions // *Cereal Res. Commun.* 1986. V. 14. P. 5–10.
- Himi E., Noda K. Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (DFR) genes of wheat and their tissue-dependent expression // *J. Exp. Bot.* 2004. V. 55. P. 365–375.
- Himi E. et al. Colour genes (R and Rc) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat // *Genome.* 2005. V. 48. P. 747–754.
- Iqbal N., et al. The use of simple sequence repeat (SSR) markers to identify and map alien segments carrying genes for effective resistance to leaf rust in bread wheat // *Plant Genet. Res.* 2007. V. 5. P. 100–103.
- Islam A. K. M. R., et al. Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley chromosome addition lines // *Heredity.* 1981. V. 46. P. 161–174.
- Islam A. K. M. R. Ditelosomic additions of barley chromosomes to wheat // *Proceedings of the 6th International Wheat Genetics Symposium* (Sakamoto S., Ed.). 1983. Maruzen, Kyoto, Japan. P. 233–238.
- Islam N. et al. Proteome approaches to characterize seed storage proteins related to ditelocentric chromosomes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Proteomics.* 2002. V. 2. P. 1146–1155.
- Islam N. et al. Wheat proteomics: Relationship between fine chromosome deletion and protein expression // *Proteomics.* 2003. V. 3. P. 307–316.
- Khlestkina E. K. et al. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequencing tags // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 109. P. 725–732.
- Khlestkina E. K. et al. Relationship between homoeologous regulatory and structural genes in allopolyploid genome – a case study in bread wheat // *BMC Plant Biol.* 2008. V. 8. P. 88.
- Khlestkina E. K. et al. Anthocyanin biosynthesis genes location and expression in wheat-rye hybrids // *Mol. Genet. Genom.* 2009(a). V. 282. P. 475–485.
- Khlestkina E. K. et al. A new gene controlling the flowering response to photoperiod in wheat // *Euphytica.* 2009(b). V. 165. P. 579–585.
- Khlestkina E. K. et al. Ent-kaurenoic acid oxidase genes in wheat // *Mol. Breed.* 2010(a). V. 25. P. 251–258.
- Khlestkina E. K. et al. Functional diversity at Rc (red coleoptile) locus in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Mol. Breed.* 2010(b). V. 25. P. 125–132.
- Khlestkina E. K. Regulatory-target gene relationships in allopolyploid and hybrid genomes // *Advances in Genetics Research.* (Urbano K.V., Ed.). N.-Y.: NOVA Science Publishers, 2010. V. 3. P. 311–328.
- Kubaláková M. et al. Analysis and sorting of rye (*Secale cereale* L.) chromosomes using flow cytometry // *Genome.* 2003. V. 46. P. 893–905.
- Kuspira J., Unrau J. Determination of the number and dominance relationships of genes on substituted chromosomes in common wheat *Triticum aestivum* L. // *Can. J. Plant Sci.* 1958. V. 38. P. 119–205.
- Law C. N., Wolfe M. C. Location of genetic factors for mildew resistance and ear emergence time on chromosome 7B of wheat // *Can. J. Genet. Cytol.* 1966. V. 8. P. 462–470.
- Leonova I. et al. Identification of microsatellite markers for a leaf rust resistance gene introgressed into common wheat from *Triticum timopheevii* // *Plant Breed* 2004. V. 123. P. 93–95.

- Li W. L.* et al. Genomic mapping of defense response genes in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1999. V. 98. P. 226–233.
- Ma C. Y.* et al. Proteomic analysis of albumins and globulins from wheat variety Chinese Spring and its fine deletion line 3BS-8 // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. V. 13. P. 13398–13413.
- McFadden E. S., Sears E. R.* The genome approach in radical wheat breeding // *J. Amer. Soc. Agron.* 1947. V. 39. P. 1011–1026.
- Pestsova E. G.* et al. Development and QTL assessment of *Triticum aestivum*-*Aegilops tauschii* introgression lines // *Theor. Appl. Genet.* 2006. V. 112. P. 634–647.
- Pillen K.* et al. Mapping new EMBL-derived barley microsatellites and their use in differentiating German barley cultivars // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 101. P. 652–660.
- Qi L. L.* et al. A chromosome bin map of 16000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat // *Genetics*. 2004. V. 168. P. 701–712.
- Röder M. S.* et al. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat // *Mol. Gen. Genet.* 1995. V. 246. P. 327–333.
- Röder M. S.* et al. A microsatellite map of wheat // *Genetics*. 1998. V. 149. P. 2007–2023.
- Sears E. R.* Cytogenetic studies with polyploid species of wheat. II. Additional chromosomal aberrations in *Triticum vulgare* // *Genetics*. 1944. V. 29. P. 232–246.
- Sears E. R.* Isochromosomes and telocentrics in *Triticum vulgare* // *Genetics*. 1946. V. 31. P. 229–230.
- Sears E. R.* Nullisomic analysis in common wheat // *Am. Nat.* 1953. V. 87. P. 245–252.
- Shcherban A. B.* et al. The effect of two differentially expressed wheat *Vrn-B1* alleles on the heading time is associated with structural variation in the first intron. *Genetica*. 2013. V. 141. P. 133–141.
- Simón M. R.* et al. Mapping quantitative resistance to septoria tritici blotch in spelt wheat // *Eur. J. Plant Pathol.* 2010. V. 128. P. 317–324.
- Simón M. R.* et al. Chromosomal location of genes encoding for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in substitution lines of wheat // *Netherlands J. Agric. Sci.* 2005. V. 53. P. 113–129.
- Somers D. J.* et al. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 109. P. 1105–1114.
- Sourdille P.* et al. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Funct. Integr. Genomics*. 2004. V. 4. P. 12–25.
- Stelmakh A. F.* Growth habit in common wheat (*Triticum aestivum* L. EM. Thell) // *Euphytica*. 1987. V. 36. P. 513–519.
- Suchánková P.* et al. Dissection of the nuclear genome of barley by chromosome flow sorting // *Theor. Appl. Genet.* 2006. V. 113. P. 651–659.
- Tereshchenko O. Y.* et al. Development and molecular characterization of a novel wheat genotype having purple grain colour // *Cereal Res. Commun.* 2012(a). V. 40. P. 210–214.
- Tereshchenko O. Y.* et al. The D genome carries a gene determining purple grain colour in wheat // *Cereal Res. Commun.* 2012(b). V. 40. P. 334–341.
- Tereshchenko O. Y.* et al. Allelic state of the genes conferring purple pigmentation in different wheat organs predetermines transcriptional activity of the anthocyanin biosynthesis structural genes // *J. Cereal Sci.* 2013. V. 57. P. 10–13.
- Tóth B.* et al. Mapping genes affecting flowering time and frost resistance on chromosome 5B of wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 107. P. 509–514.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИСТОЧНИКИ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ОСНОВНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ СЕЛЕКЦИИ ОВСА В СЕВЕРНОМ ЗАУРАЛЬЕ

М. Н. Фомина

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья
Россельхозакадемии, Тюмень, Россия, e-mail: maria_f72@mail.ru

Резюме

Представлены результаты многолетней оценки исходного материала овса различного эколого-географического происхождения в условиях Северного Зауралья по основным хозяйственно-ценным признакам. Выделены новые источники по скороспелости, короткостебельности, устойчивости к полеганию, устойчивости к распространенным патогенам, продуктивности, высокого качества зерна.

Ключевые слова: селекция овса.

GENETIC RESOURCES FOR REALIZATION OF THE MAIN DIRECTIONS IN OAT BREEDING IN THE NORTHERN TRANS-URALS

M. N. Fomina

State Scientific Establishment Research Institute of Agriculture
in the Northern Trans-Urals of RAAS, Tyumen, Russia, e-mail: maria_f72@mail.ru

Summary

The results of a perennial study carried out in the Northern Trans-Urals on the main economically important traits in oats of different ecogeographic origin are presented. New sources for earliness, short stem, lodging resistance, resistance to common pathogens, productivity and high grain quality have been identified.

Key words: oatbreeding.

Разнообразие природно-климатических условий Северного Зауралья и достаточно широкий спектр использования овса определяют необходимость внедрения в производство значительного набора сортов со специфическими признаками для каждой зоны возделывания с учетом потребностей сельхозпроизводителей. Это обуславливает основные направления селекции овса: скороспелость, засухоустойчивость, устойчивость к полеганию, иммунитет к распространенным болезням, повышение урожая и качества зерна.

За 30 лет развития селекции овса в Тюменской области изучено более 1500 сортов разного эколого-географического происхождения из мировой коллекции ВНИИР им. Н. И. Вавилова. Это позволило выделить ряд генетических источников, пригодных для реализации перечисленных направлений.

Продолжительность периода вегетации. Вегетационный период – одно из важнейших биологических свойств овса, определяющих пригодность сорта для возделывания в той или иной зоне. В числе первоочередных задач проблема скороспелости, так как это одно из условий получения гарантированных урожаев (Заушинцена, 2011). В условиях частого возврата холодов и проявления ранних осенних заморозков скороспелые сорта имеют преимущество по сравнению со среднеспелыми и среднепоздними как по урожаю зерна, так и по качеству семян. Вместе с тем наличие сортов разных групп спелости позволяет за счет их взаимодополнения стабилизировать общий уровень урожайности как по зонам возделывания, так и по годам.

В результате многолетних исследований (1984–2012 гг.) в условиях Северного Зауралья выделена группа раннеспелых сортов, которые могут быть использованы в селекции на скороспелость. Из сортов отечественной селекции к ним относятся: Хибины 2 (Мурманская область); Таежник (Томская область); Мегион, Журавленок (Тюменская область); Скороспелый, Денс (Кировская область). В качестве источников скороспелости можно также рекомендовать сорта: Полонез (Белоруссия); Синельниковский 21 (Днепропетровская область); Titus, s.v.Svea (Швеция); Consal, Kalgan, Lort (Австрия); Loren, Derby (Канада); IL 86-4189, IL 85-2669, Nordan, (США); Hokkai 39 (Япония), Eberhard (Австралия). Скороспелостью отличались образцы из Германии (к-12163, к-12165, к-13401, к-14581, к-14584, к-14586, к-14588, к-14589), Польши (к-14519, к-14522, к-14523, к-14524), Болгарии (к-14411) и Эстонии (к-14591).

Засухоустойчивость. Для Северного Зауралья, как и для всей Западной Сибири, характерна весенне-летняя засуха, которая во многом определяется условиями осени и зимы. Засухи слабой и средней интенсивности продолжительностью 11–27 дней наблюдаются в Тюменской области почти ежегодно, а интенсивные и очень интенсивные чаще бывают в южной лесостепи с вероятностью более 60 % (Бурлака, 1973).

За годы изучения коллекционного материала (1984–2012 гг.) в зоне северной лесостепи Тюменской области интенсивные и очень интенсивные засухи были отмечены в девяти случаях (1987, 1988, 1998, 2000, 2004, 2005, 2008, 2010, 2012 гг.). Особенно жесткими были условия в 1987, 1998, 2008 и 2012 гг.

Критический период у овса по отношению к засухе захватывает большую часть фазы выхода в трубку, выметывание и цветение. При засухе в этот период происходит резкое снижение завязываемости зерен в метелке (Шевелуха, Дроздова, 1978; Богачков, 1986).

За критерий оценки на засухоустойчивость в качестве основного показателя взята урожайность сортов (Фомина, 1998). В связи с тем, что урожайность стандартного сорта в условиях засухи снизилась в 2 раза (с 664,8 до 323,0 г/м²), нами принята условная классификация. Она включает 4 группы:

1. Слабоустойчивые – сорта с урожайностью ниже стандарта;
2. Среднеустойчивые – сорта с урожайностью на уровне стандарта;
3. Устойчивые – сорта, превышающие стандарт на 20–50 %;
4. Высокоустойчивые – сорта, превышающие стандарт более чем на 50 %.

Результаты оценки показали, что на долю высокоустойчивых сортов приходится всего 2,8 %. Высокая устойчивость к засухе была отмечена у сортов: Победа (Швеция); NSC 3076-76 (Великобритания); C.J.V.1374 (Голландия); Nos Weiss, Nerva (Германия); Sionx, Garkton, Gemini (Канада); Multiein M68 (США). Сравнительно высокой устойчивостью к засухе характеризовались отдельные образцы из Финляндии (к-10895, к-12132). Урожайность этих образцов была выше стандарта в 1,4–1,6 раза, а снижение урожая в условиях засухи составило всего 13,7–36,0 %.

Устойчивость к полеганию. Устойчивость к полеганию – это физиологическая реакция на определенные условия внешней среды: а) недостаток света; б) переувлажнение почвы; в) влажный, с высокой температурой воздуха микроклимат в стеблестое; г) избыток азота в почве; д) грибные и бактериальные заболевания (Петинов, 1965).

Результаты изучения исходного материала овса в условиях Северного Зауралья показали высокую изменчивость анализируемого признака. Обильные осадки в период вегетации и высокая влажность почвы провоцировали полегание коллекционных образцов. Особенно сильно оно проявилось в экстремальных условиях 1986, 1992 и 2002 гг., когда устойчивость к полеганию у большинства сортов оценивалась 1,0–2,5 балла. Однако и в провокационных условиях было выделено более 25 % образцов с высокой устойчивостью к полеганию (7,5–9,0 бал.). Они имели упругую прочную

соломину высотой 70–90 см. Это сорта из Прибалтики, Скандинавии, Голландии, Германии, Франции и Новой Зеландии. Из сортов отечественной селекции не полегли: Фаленский 2 (Кировская область); Юбилейный 60 (Свердловская область); Мирный (Курская область); Мутика 362 (Омская область); Тюменский 82, Мегион, Журавленок (Тюменская область). Особый интерес представляют высокоурожайные, устойчивые к полеганию сорта: s.v. Svea, s.v. Dan (Швеция); WZ 437, WZ 459, Ariban (Голландия); Tiger, Audax, Arnold (Германия); Carlote, Avalache (Франция); Bredy (Ирландия); Aa 736 (Великобритания). Изучение коллекционных образцов позволило выделить группу короткостебельных, неполегающих сортов высотой 48–68 см. В качестве источников короткостебельности могут быть использованы образцы: к-14392 (Канада); к-14167 (Австрия); к-14403, к-14166 (Австралия); к-14523 (Польша). Однако следует отметить, что по продуктивности эти сорта значительно уступали стандарту (табл. 1).

Таблица 1. Урожайность источников короткостебельности в условиях Северного Зауралья

№ по каталогу ВИР	Сорт, линия	Происхождение	Высота, см	Урожайность, г/м ²	Процент к стандарту
	Мегион(St)	Тюменская обл.	94	619,2	–
к-14392	Otter 207	Канада	68	570,0	92,0
к-14167	Murray	Австрия	50	238,0	38,7
к-14403	Echidna	Австралия	48	363,3	58,7
к-14166	Dobphin	Австралия	60	270,1	43,6
к-14523	Jawor	Польша	68	481,2	77,7
НСР05			2,7	20,9	

Иммунитет к фитопатогенам. Переход сельского хозяйства к сбалансированному (биологическому) земледелию предполагает максимальное использование природных возможностей растений, в том числе и устойчивости к заболеваниям. Из болезней овса в Северном Зауралье широко распространены пыльная и покрытая головня. В отдельные годы наблюдаются сильные эпифитотии корончатой и стеблевой ржавчины. Поражение головневыми заболеваниями у ряда коллекционных образцов в естественных условиях было отмечено в 1998, 2001–2003 гг., оно составило 0,07–30,5 %. Оценка исходного материала на провокационном фоне показала высокий размах варьирования по восприимчивости сортов к видам головни (0–88 %). Вместе с тем выделены высокоиммунные генетические источники. Наибольшее количество иммунных и практически устойчивых форм отмечено среди сортов американского происхождения (к-10269, к-11180, к-11181, к-12297, к-13400, к-13505, к-11571, к-11573, к-11613 и др.). В группе европейских сортов высокую устойчивость к головневым заболеваниям имели: HA 70-81-4 (Финляндия); Kallot, Sofi (Швеция); Президент (Голландия); Nerva (ФРГ); Sirene (Франция); Tarra (Австрия); Rodney B (ЧССР). Оценка устойчивости коллекционных сортов овса к корончатой и стеблевой ржавчине позволила выделить источники с повышенным иммунитетом к этим видам заболеваний: Монар (Томская область); N 68322 (Швеция); Polodia, Lupus, Lutz (Германия); Cravache (Франция); Calvin (Швейцария); Gruzly (Канада). Выделены источники комплексной устойчивости овса к возбудителям головневых болезней и корончатой ржавчины (табл. 2).

Урожайность и качество зерна. Конечным критерием пригодности сорта для возделывания в производстве является урожайность. Формирование высокой продуктивности возделываемых сортов обеспечивается за счет сочетания структурных элементов применительно к конкретным условиям возделывания. Анализ взаимосвязи количественных признаков с урожайностью зерна показал, что в условиях Северного

Зауралья продуктивность овса формируется в основном за счет массы зерна с растения ($r = 0,33-0,72$). Существенную роль в формировании урожая зерна всех групп спелости играло число зерен в метелке ($r = 0,13-0,74$). Крупность зерна имела большое значение в годы, достаточно обеспеченные теплом и влагой, особенно для раннеспелых сортов ($r = 0,37-0,51$). Продуктивная кустистость значительный вклад в формирование урожая зерна вносила в годы, достаточно обеспеченные влагой ($r = 0,35-0,80$). В числе перспективных генетических источников высокой продуктивности выделены: Орион (Омская область), Чародей (Алтайский край), Ariban (Голландия), Bredy (Ирландия), Borrus (Польша), Carlotte (Франция), Otter755 (США) и другие.

Таблица 2. Источники комплексной устойчивости овса к возбудителям головневых болезней и корончатой ржавчине

№ по каталогу ВИР	Сорт	Происхождение	Вид, разновидность
к-12130	Sirene	Франция	<i>A. sativa</i> , v. <i>montana</i>
к-12169	Tarra	Австрия	<i>A. sativa</i> , v. <i>aurea</i>
к-11181	Russel	Канада	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-13505	Fidler	Канада	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-11568	Santee	США	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-11573	Tioga	США	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-11613	Gaucu	США	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-11815	D -104	Перу	<i>A. sativa</i> , v. <i>aurea</i>
к-11888	A 2	Эквадор	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>
к-13545	Ohau	Новая Зеландия	<i>A. sativa</i> , v. <i>mutica</i>

Зерно овса используется на кормовые цели и служит сырьем для пищевой промышленности. Проведенное нами изучение биохимических показателей зерна на широком наборе сортов овса отечественной и зарубежной селекции позволяет реально оценить состояние рассматриваемого вопроса в Северном Зауралье и определить возможности селекции в данном направлении на перспективу.

В качестве источников повышенного содержания белка в зерне (13,56–14,34 %) среди пленчатых образцов выделены: к-13385 (Финляндия); к-12274 (Швеция); к-11398 (США); к-11892 (Эквадор); к-11798 (Перу). Высоким содержанием белка отличались голозерные формы из Германии, Франции и Китая: Цезарь (15,75 %), Nuprime (14,75 %), Юй-Май (15,71 %).

Кормовые и пищевые достоинства зерна овса в большой степени зависят от наличия и сбалансированности аминокислот, в частности лизина, так как именно лизин лимитирует питательную ценность белка овса. Среди изучаемых номеров выделены образцы с содержанием лизина в белке 4,0 % и более, а сорта Черкасский 1 (Черкасская область) и WW 17068 (Швеция) способны накапливать лизина более 5,0 %. В качестве источников, сочетающих повышенное содержание белка в зерне с повышенным содержанием лизина в белке, могут служить следующие сорта: Shearer (к-11917, Шотландия); Krukanicky bezplicky (к-11342, ЧССР); местный (к-6950, Югославия); Nuprime (к-11630, Франция).

Не менее важный показатель качества зерна овса – пленчатость. Питательные качества цветковых чешуй овса очень низкие, поэтому снижение пленчатости улучшает его кормовые и пищевые достоинства. В качестве источников низкой пленчатости можно рекомендовать: Геркулес (Московская область); Санта (Латвия); Сидабрес (Литва); ряд образцов из Финляндии (к-13385, к-13387, к-12282, к-13273, к-13384); Швеции (к-12258, к-12260, к-12276, к-12477); США (к-11563, к-13277, к-13278) и другие. Особый интерес представляют образцы к-11892 (Эквадор) и к-11798

(Перу), которые сочетали низкую пленчатость (20,05–20,25 %) с повышенным содержанием белка (13,56–13,82 %).

Таким образом, многолетнее изучение коллекции в условиях Северного Зауралья позволило выделить генетические источники для реализации основных направлений селекции. На их основе создано 9 новых сортов, три из которых (Мегион, Талисман, Отрада) внесены в государственный реестр и успешно возделываются в производстве, а один (Фома) находится в государственном сортоиспытании.

Литература

- Богачков В. И.* Овес в Сибири и на Дальнем Востоке. М.: Россельхозиздат, 1986. 127 с.
- Бурлака В. В.* Борьба с засухой в условиях Северного Зауралья : экспресс-информация. Тюмень, 1973. № 14 (72). 12 с.
- Заушинцева А. В.* Генетические источники для реализации основных направлений селекции ячменя в Сибири // Труды по прикл. бот., ген. и сел. СПб.: ВИР, 2011. Т. 168. С. 101–104.
- Петинов Н. С.* Современное состояние научно-исследовательских работ по полеганию зерновых культур и основные перспективные направления // Устойчивость растений против полегания: Тезисы к совещанию 29 июня–2 июля 1965 г. Минск, 1965. С. 3–13.
- Фомина М. Н.* Исходный материал для селекции сортов овса интенсивного типа в условиях Северного Зауралья : Дисс. ... канд. с.-х. наук. Тюмень, 1998. 205 с.
- Шевелуха В. С., Дроздова Л. И.* Особенности роста и формирования урожая сортов овса различной продуктивности // Устойчивость зерновых культур к факторам среды. Минск: Ураджай, 1978. С.145–160.

СОДЕРЖАНИЕ

Естественный иммунитет растений к вредным организмам

Лебедева Т. В., Зуев Е. В., Стецюк С. Н. Устойчивость к мучнистой росе образцов мягкой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.) коллекции ВИР.....	3
Радченко Е. Е. Генофонд и селекция зерновых культур на устойчивость к тлям	11
Рогозина Е. В., Хавкин Э. Е., Соколова Е. А., Кузнецова М. А., Гавриленко Т. А., Лиманцева Л. А., Бирюкова В. А., Чалая Н. А., Джонс Р. В., Дил К. Л. Клоновая коллекция диких видов и межвидовых гибридов картофеля, изученная фитопатологическим методом и с помощью ДНК-маркеров.....	23

Генетические ресурсы растений в эпоху интеграции и молекулярных технологий

Анисимова И. Н., Гаврилова В. А., Алпатьева Н. В., Малков И. А., Пинаев А. Г., Рожкова В. Т. Молекулярное маркирование генов восстановления фертильности пыльцы подсолнечника	33
Абугалиева А. И., Ажгалиев Т. Б., Жумаханова А. Ж., Долгих Л. Сортной генофонд масличных культур в Казахстане	44
Буренин В. И., Пискунова Т. М. Развитие идей Н. И. Вавилова в изучении и использовании геноресурсов овощных и бахчевых культур	53
Воробьев Н. И., Проворов Н. А., Свиридова О. В., Пищик В. Н., Патыка Н. В., Думова В. А., Круглов Ю. В. Ранг генетического дизайна и адаптационный потенциал растительно-микробных систем	61
Зобова Н. В. Ретроспективный и текущий анализ селекционных данных с использованием информационно-поисковых систем	68
Красавин В. Ф., Айтбаев Т. Е. Генетические ресурсы картофеля и их использование в казахстанской селекции	79
Кулаковская Т. В. Эколого-экономические аспекты сохранения и использования биологического разнообразия мировой флоры для решения глобальных проблем	84
Михайлова Е. И., Толкачева А. В., Соснихина С. П. Элементы консервативности и специфичности в реализации мейоза у ржи <i>Secale cereale</i> L., выявленные методами молекулярной цитогенетики	100
Пороховинова Е. А., Морван К., Брач Н. Б., Кутузова С. Н. Генетическая коллекция льна в ВИРе: фундаментальное и прикладное использование.....	107
Крылова Е. А., Овчинникова А. Б., Новикова Л. Ю., Чухина И. Г., Смекалова Т. Н., Костина Л. И., Гавриленко Т. А. Морфометрический анализ аутентичных гербарных образцов культурных видов картофеля секции <i>Petota</i> Dumort. рода <i>Solanum</i> L. из коллекций WIR и LE	117
Сафина Г. Ф., Филипенко Г. И. Долговечность семян при хранении и ее прогнозирование методом ускоренного старения	123
Хлесткина Е. К. Цитологически и генетически маркированные линии пшеницы в работах по молекулярной и функциональной генетике злаков	131
Фомина М. Н. Генетические источники для реализации основных направлений селекции овса в Северном Зауралье	143

CONTENT

Natural immunity of plants to harmful organisms

Lebedeva T. V., Zuev E. V., Stetsyuk S. N. Powdery mildew resistance in wheat varieties (<i>Triticum aestivum</i> L.) from the VIR collection	3
Radchenko E. E. Cereal crops genepool and breeding for aphid resistance	11
Rogozina E. V., Khavkin E. E., Sokolova E. A., Kuznetsova M. A., Gavrilenko T. A., Limantseva L. A., Biryukova V. A., Chalaja N. A., Jones R. W., Deahl K. L. Clone collection of wild species and interspecific hybrids of potato studied phytopathologically and by means of DNA markers	23

Plant genetic resources in the age of integration and molecular technologies

Anisimova I. N., Gavrilova V. A., Alpatieva N. V., Malkov I. A., Pinaev A. G., Rozhkova V. T. Molecular marking of sunflower pollen fertility restoration genes	33
Abugalieva A. I., Azhgaliev T. B., Zhumahanova A. Zh., Dolgih L. Genetic diversity of oil crops in Kazakhstan	44
Burenin V. I., Piskunova T. M. Development of ideas of N.I. Vavilov concerning evaluation and use of genetic resources of vegetable and cucurbit crops	53
Vorobyov N. I., Provorov N. A., Sviridova O. V., Pishchik V. N., Patyka N. V., Dumova V. A., Kruglov Yu. V. Rank of genetic design and adaptive potential of plant-microbial systems	61
Zobova N. V. Information retrieval systems assisted retrospective and current analysis of selection data	68
Krasavin V. F., Aitbaev T. E. Potato genetic resources and their use in breeding in Kazakhstan	79
Kulakouskaya T. V. Ecological and economic aspects of conservation and sustainable use of plant biological diversity for solving global problems	84
Mikhailova E. I., Tolkacheva A. V., Sosnikhina S. P. Conserved and specific features of meiosis in rye (<i>Secale cereale</i> L.), revealed by molecular cytogenetic methods	100
Porokhovina E. A., Morvan C., Brutch N. B. VIR flax genetic collection: Fundamental and applied use	107
Krylova E. A., Ovchinnikova A. B., Novikova L. Yu., Chukhina I. G., Smekalova T. N., Kostina L. I., Gavrilenko T. A. Morphometric analysis of authentic herbarium specimens from VIR and LE collections of cultivated potato species of the section <i>Petota</i> Dumort. in the genus <i>Solanum</i> L.	117
Safina G. F., Filipenko G. I. Longevity of seeds at storage and its predicting by the accelerated ageing method	123
Khlestkina E. K. Cytologically and genetically marked wheat lines in the works on molecular and functional genetics of cereal grasses	131
Fomina M. N. Genetic resources for realization of the main directions in oat breeding in the Northern Trans-Urals	143

Научное издание

**ТРУДЫ ПО ПРИКЛАДНОЙ БОТАНИКЕ,
ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ**
том 174

В авторской редакции
Технический редактор *В.Г. Лейтан*
Компьютерная верстка *Л.Ю. Шипиловой*
Корректор *А.И. Rogozin, Л.Е.Лачинова*

Подписано в печать 20.09.2013 Формат бумаги 70×100 ¹/₁₆
Бумага офсетная. Печать офсетная
Печ. л. 9,4 Тираж 300экз. Зак.26/14

Сектор редакционно-издательской деятельности ВИР
190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 44

ООО «Р-Копи»
Санкт-Петербург, пер. Гривцова, 6Б