

УДК 633.11

О ГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗНООБРАЗИИ МЕСТНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, СОБРАННЫХ НАУЧНЫМИ ЭКСПЕДИЦИЯМИ В АФГАНИСТАНЕ

© 2012 г. О. П. Митрофанова¹, П. П. Стрельченко¹, Е. В. Зуев¹, К. Стрит²,
Я. Конопка², М. Маккей³

¹ ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова Российской академии сельскохозяйственных наук, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: o.mitrofanova@vir.nw.ru;

² International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Syrian Arab Republic;

³ Australian Winter Cereals Collection, Australia

Поступила в редакцию 30 июня 2012 г. Принята к публикации 23 июля 2012 г.

Территория Афганистана, на которой сформировался один из первоначальных очагов земледелия, была включена Н.И. Вавиловым в состав Среднеазиатского центра происхождения и разнообразия культурных растений. К этому центру отнесена и гексаплоидная 42-хромосомная пшеница с геномной формулой *AABBDD*. С целью сбора диких и возделываемых культурных растений земледельческие районы Афганистана неоднократно обследовали научные экспедиции разных стран, собранный материал сохраняется в различных генетических банках семян. В статье рассмотрено распределение афганских местных сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) из коллекции ВИР и австралийской коллекции (AWCC) по высоте над уровнем моря и категориям климата, различающимся по степени засушливости (увлажнения). Приведены сведения об источниках селекционно ценных признаков, выявленных среди афганской мягкой пшеницы. Для того чтобы раскрыть структуру ее генетического разнообразия, изучено 116 генотипов по 13 микросателлитным локусам.

Ключевые слова: мягкая пшеница, местные сорта, экспедиционные места сбора, микросателлитные маркеры, генетическое разнообразие, Афганистан.

Со второй половины июля по декабрь 1924 г. Н.И. Вавилов вместе с инженером-агрономом Д.Д. Букиничем и селекционером В.Н. Лебедевым совершили экспедицию в Афганистан, обследовали все главнейшие земледельческие районы этой страны с целью уточнить очаги происхождения культурных растений, собрать образцы диких и возделываемых культур, исследовать технику земледелия и ирригации, выяснить сельскохозяйственные ресурсы региона (Вавилов, Букинич, 1959). Экспедиция, по мнению Н.И. Вавилова, была тяжелой, но удачной, было собрано свыше 7 тыс. образцов различных возделываемых растений (Вавилов, 1925), составлено весьма «полное представление о стране в сельскохозяйственном, этнографическом и экономическом отношениях» (Вавилов, Букинич, 1959. С. 49).

Последующие экспедиции ВИР в Афганистан состоялись в 1926–1927 гг. (Вавилов, Букинич, 1959), а затем спустя почти 40 и 45 лет соответственно: в экспедиции 1963 г. участвовали Т.Н. Шевчук и В.Л. Витковский (1963), в экспедиции 1969 г. – В.М. Берлянд-Кожевников. Маршрут экспедиции 1963 г. пролегал через основные сельскохозяйственные районы Афганистана, а 1969 г. – воспроизводил во многом путь, проделанный экспедицией 1924 г., на что указывают географические координаты мест сбора семенного материала, привезенного этой экспедицией и включенного в коллекцию ВИР.

Цель настоящей работы – охарактеризовать генетическое разнообразие мягкой пшеницы, собранной в Афганистане, применив геоинформационные данные для характеристики мест

сбора образцов и ПЦР-технологии для анализа микросателлитных локусов, а также определить взаимосвязи между местными сортами мягкой пшеницы в пределах территории этой страны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили 459 местных сортов (образцов) мягкой пшеницы из Афганистана, сохраняемых в коллекции ВИР. Для сравнения с ними приведены сведения о 992 афганских образцах из австралийской коллекции хлебных злаков озимого сева (Australian Winter Cereal Collection, AWCC). Оба набора образцов исследовали в рамках международного проекта «Technologies for the targeted exploitation of the N.I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR), ICARDA and Australian bread wheat landrace germplasm for the benefit of the wheat breeding programs of the partners» (2000–2008), поддержанного австралийской организацией Grain Research and Development Corporation. В проекте участвовали ВИР (Россия), International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA, Сирия) и AWCC (Австралия). Одной из задач проекта было уточнение паспортных данных образцов, к которым относятся географические характеристики их мест сбора (детали на <http://www.figstraitmine.com>). Информацию о местах сбора, их климатических условиях использовали для классификации образцов обеих выборок.

Для оценки генетического разнообразия мягкой пшеницы Афганистана и его распределения по территории этой страны была изучена выборка из 116 местных сортов, которая включала образцы обеих названных выше коллекций и охватывала 100 мест сбора, из которых 34 – места сборов экспедиции Н.И. Вавилова. Каждое место сбора было представлено 1–5 образцами в зависимости от общего числа образцов, собранных в данном месте.

ДНК выделяли из единичных проростков, при этом каждый из 116 изученных образцов был представлен одним случайно взятым из образца генотипом. Использовали 13 пар олигонуклеотидных праймеров, которые в полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали 13 микросателлитных (МС) локусов ДНК (*Xgwm46*, *Xgwm149*, *Xgwm186*, *Xgwm190*,

Xgwm257, *Xgwm261*, *Xgwm285*, *Xgwm341*, *Xgwm413*, *Xgwm437*, *Xgwm469*, *Xgwm610*, *Xgwm626*), локализованных в разных хромосомах мягкой пшеницы (Baulforier *et al.*, 2007).

ПЦР-реакции проводили в термоциклере Applied Biosystems 9700 по следующей схеме: сначала ДНК денатурировали в течение 5 мин при 95 °С, затем осуществляли 34 цикла амплификации (30 с при 95 °С, 30 с при 45–60 °С в зависимости от праймера, 30 с при 72 °С) и, наконец, заключительный синтез продуктов проводили в течение 5 мин при 72 °С (Röder *et al.*, 1998). Для дальнейшего анализа готовили смеси, состоящие из продуктов амплификации, полученных с двумя или тремя парами праймеров, меченных разными флюоресцентными красителями. Эти смеси анализировали в автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730. Размеры фрагментов ДНК определяли с использованием программного обеспечения ABI PRISM GeneMapper v.3.0.

Амплифицированные фрагменты ДНК разной длины учитывали как различающиеся аллели МС-локуса, которые при составлении бинарной матрицы исходных данных кодировали цифрами 1 или 0, что обозначало наличие или отсутствие каждого аллеля у данного локуса. На основе исходной матрицы данных строили матрицу коэффициентов подобия генотипов Жаккара, которую использовали для кластеризации методом Neighbor-Joining в программе DARwin5 (Perrier, Jacquemoud-Collet, 2006). Устойчивость кластеров оценивали с использованием бутстреп-анализа в той же программе при 1000-м повторении выборок.

Величину индекса разнообразия микросателлитных локусов H рассчитывали по формуле:

$$H = 1 - \sum_i^k (x_i^2),$$

где x_i – частота i -аллеля и k – число аллелей (Nei, 1973; Laurentin, 2009).

Среднее разнообразие на локус в изученной выборке генотипов определяли по М. Нею (Nei, 1978). Для оценки однородности субвыборок генотипов, собранных в пунктах, расположенных на разных высотах над уровнем моря и различающихся по степени засушливости (увлажнения) климата, использовали критерий χ^2 (Зайцев, 1984). Достоверность различий индексов разнообразия МС-локусов при парном

сравнении субвыборок определяли с помощью парного критерия Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время тысячи местных сортов пшеницы сохраняются в генетических банках семян различных стран мира как ценный материал, содержащий различные мутантные гены, их комбинации. Однако этот материал в массе своей плохо изучен для эффективного использования в селекции (Dreisigacker *et al.*, 2005). Не является исключением и коллекция ВИР. Чтобы получить дополнительные сведения о потенциальном генетическом разнообразии местных сортов, были уточнены их паспортные данные, прежде всего, информация о местах сбора. Если предположить, что местные сорта мягкой пшеницы в течение тысячелетий возделывались на определенных территориях (местах сбора), различающихся по почвенно-климатическим характеристикам и влиянию биотических факторов, и должны быть приспособлены к условиям этих территорий, то разные давления отбора могли привести к генетической дифференциации сортов по многим признакам, сопряженным с адаптацией.

Благодаря дополнительному поиску и анализу научной документации, хранящейся в архивах отделов ВИР, а также литературы, содержащей сведения об экспедициях в Афганистан, нам удалось уточнить описания мест сбора 256 образцов мягкой пшеницы и определить географические координаты их мест сбора. Среди них 157 образцов, собранных экспедициями ВИР в 1924–1927 гг., 23 – 1963 г. и 73 – 1969 г. Места сбора этих образцов показаны на рис. 1.

Н.И. Вавилов и Д.Д. Букинич на основании «распределения тепла, влаги и высоты над уровнем моря», а также по «характеру культурной и дикой растительности» схематически выделили в Афганистане три зоны и шесть климатических областей: 1) горная, включающая области с холодным и умеренным климатами (расположены на высоте выше 2400 и 1300–2400 м над уровнем моря соответственно); 2) низинная (ниже 900 м) с областями пустынного типа, в виде степей и предгорий или с субтропическим влажным климатом, а также 3) средняя зона (от

900 до 1300 м над уровнем моря) с пустынными областями и очень малым количеством осадков (Вавилов, Букинич, 1959. С. 56–58). Примерно те же характеристики климата и климатические области описал А.Е. Снесарев (1935), рассматривая Афганистан как страну преимущественно горную: высоких горных плато (на высоте 8–11 тыс. футов, 1 фут = 0,3048 м), возвышенных плато или долин (4–8 тыс. футов), степных или холмистых районов (2–4 тыс. футов) и низменных долин (1,5–2 тыс. футов). По данному им описанию, первый из климатов – холодный и суровый; второй – умеренный, напоминающий климат средней России, но с более знойным летом; третий – похож на климат черноморских степей, но также с более жарким летом и почти без весны и осени; наконец, четвертый – знойный климат низин. При всем многообразии климатов для Афганистана характерны также резкое различие дневных и ночных температур, сухость воздуха, малая облачность и обилие света.

Учитывая приведенные выше сведения о климате Афганистана, для классификации местных сортов были использованы такие показатели, как «высота над уровнем моря» и «степень засушливости климата» (табл. 1). Как видно из представленных данных, в коллекциях ВИР и AWCC имеются образцы, собранные на разных высотах и в местах с различной степенью засушливости (увлажнения) климата, при этом мало образцов с низинных территорий (≤ 600 м), имеющих «сухой» климат. Австралийская коллекция, по сравнению с коллекцией ВИР, содержит значительно больше образцов с высот



Рис. 1. Места сборов образцов мягкой пшеницы из коллекции ВИР в Афганистане в 1924, 1963 и 1969 гг.

Таблица 1

Распределение образцов, сохраняемых в коллекциях ВИР и AWCC, по высоте над уровнем моря и степени засушливости (увлажнения) климата

Высота над уровнем моря, м	Число образцов из коллекций ВИР / AWCC, собранных в местах с различной степенью засушливости климата				
	сухой (AI = 0,03–0,2)	ближе к засушливому (AI = 0,2–0,5)	ближе к влажному (AI = 0,5–0,75)	влажный (AI = 0,75–1,0)	очень влажный (AI ≥ 1,0)
≤ 600	0 / 2	30 / 66			
601–1200	11 / 29	50 / 97	8 / 10	3 / 1	
1201–1800		17 / 95	25 / 38	8 / 5	1 / 0
1801–2400		2 / 21	36 / 214	14 / 14	3 / 5
2401–3000			2 / 82	10 / 115	22 / 142
≥ 3001				4 / 0	10 / 56
Всего	11 / 31	99 / 279	71 / 344	39 / 135	36 / 203

Примечание. AI – индекс аридности.

более чем 1800 м над уровнем моря, места сбора которых имеют климат от «ближе к влажному» до «очень влажный». В основном это сборы британской экспедиции Университета г. Рединга, проведенной в 1965 г. (Halloran, 1965).

Поскольку образцы афганской мягкой пшеницы из коллекции ВИР ранее в составе различных наборов проходили изучение, то мы попытались выявить наличие каких-либо закономерностей в распределении признаков мягкой пшеницы в зависимости от высоты над уровнем моря и климатических условий.

Разнообразие по морфологическим признакам колоса и зерновки изученного материала можно представить как разнообразие ботанических разновидностей коллекционных образцов. Н.И. Вавилов и Д.Д. Букинич (1959. С. 223) отмечали, что «Афганистан чрезвычайно богат разновидностями, не уступая в этом ни одной стране мира». В основе своей собранное ботаническое разнообразие сохранено. Как показали наши исследования, многие из коллекционных образцов мягкой пшеницы, происходящие из Афганистана, были гетерогенными и содержали в своем составе от двух до пяти ботанических разновидностей. В совокупности у исследованных афганских образцов идентифицировано 45 ботанических разновидностей, в основном азиатского подвида мягкой пшеницы subsp. *hadropyrum* (Flaksb.) Tzvel., т. е. с грубым колосом, жесткими толстокожистыми колосковыми и цветковыми чешуями и жесткими зазубрен-

ными ломкими остями. В количественном отношении среди них преобладали остистые формы мягкой пшеницы, а именно: var. *erythroleucum* (Koern.) Mansf., *graecum* (Koern.) Mansf., *meridionale* (Koern.) Mansf. *turcicum* (Koern.) Mansf., а также разновидности европейского подвида subsp. *aestivum* – *erythrospermum* Koern. и *ferrugineum* (Alef.) Mansf., которые особенно часто встречались в «высокогорных районах и в озимых горных поливных посевах» (Вавилов, Букинич, 1959. С. 224). Анализ встречаемости перечисленных разновидностей по классам «высота над уровнем моря» и категориям «климат по степени засушливости» не выявил каких-либо закономерностей в их распределении (табл. 2). Наличие каждой из разновидностей установлено почти во всех классах. Наряду с рассмотренными широко распространенными ботаническими разновидностями, названные выше авторы выделили также классы «часто и редко встречающихся» разновидностей. К первому из них можно отнести, например, *lutescens* (Alef.) Mansf. и *barbarossa* (Alef.) Mansf., к последнему – *albidum* Alef., *iranicum* (Vav.) Mansf., *milturum* (Alef.) Mansf., *suberythrospermum* (Vav.) Mansf., *subferrugineum* (Vav.) Mansf., *caesium* (Alef.) Mansf. и другие с признаками серо-дымчатой и черной окраски колоса, безостые или с короткими остями, а также с признаками инфлятности и спельтоидности. Ботанические разновидности обоих классов также присутствовали почти в каждом из классов по

Таблица 2

Распределение часто встречающихся и редких разновидностей по высоте над уровнем моря и степени засушливости климата

Высота над уровнем моря, м	Градации климата			
	ближе к засушливому	ближе к влажному	влажный	очень влажный
≤ 600	9-18-4-4-2-0* (5)			
601–1200	8-27-8-4-5-5 (8)	3-0-1-2-5-0 (0)	0-0-1-0-0-0 (2)	
1201–1800	1-4-3-0-2-3 (3)	2-8-4-2-3-0 (3)	0-3-0-2-2-0 (2)	
1801–2400		0-12-5-2-1-3 (5)	2-6-7-1-1-1 (3)	0-2-0-0-0-0 (0)
≥ 2401			0-5-3-2-2-2 (2)	6-10-8-6-4-2 (14)

* Число сортов, содержащих разновидности *erythroleucum-erythrospermum-ferrugineum-graecum-meridionale-turcicum* соответственно. В скобках – число редких разновидностей.

«высоте» и «степени засушливости климата», причем больше всего редких разновидностей сохранилось для мест сбора с «очень влажным климатом», которые расположены выше 2400 м над уровнем моря.

Результаты полевого изучения афганских местных сортов мягкой пшеницы в условиях Северо-Кавказского региона на Дагестанской опытной станции ВИР (ДОС ВИР), а также лабораторные исследования, проведенные в ВИР, показали селекционную ценность этого материала (табл. 3). Продолжительность вегетационного периода сортов составляла 167–184 дня, в целом они были отнесены к группе среднеспелых пшениц. Из них наиболее скороспелыми были пять образцов, собранных в различных пунктах. О наличии в Афганистане чрезвычайно скороспелой мягкой пшеницы, превосходящей по скорости развития на 4–5 дней широко известный канадский сорт Prelude и сибирские пшеницы, писали Н.И. Вавилов и Д.Д. Букинич (1959). Относятся ли перечисленные в табл. 3 образцы пшеницы к этой группе, утверждать трудно, поскольку их не сравнивали с названными выше сортами. Высота растений у афганских пшениц варьировала в пределах от 85 см (к-12605) до 160 см (к-45527), но так же, как большинство местных пшениц, они были высокорослыми. Почти все афганские мягкие пшеницы сильно поражались бурой и желтой ржавчиной и мучнистой росой. Однако среди них были идентифицированы источники устойчивости к пыльной головне (Мягкова и др., 1981). Источники происходили из мест, расположенных на высоте 1840–2860 м над уровнем моря, с климатом от «ближе к влажному» до

«очень влажного» (см. табл. 3). Известно, что для развития возбудителя пыльной головни *Ustilago tritici* (Perc.) оптимальными условиями являются температура 18–24 °С и высокая относительная влажность воздуха (Дружин, Крупнов, 2008). Возможно, высокогорные области благоприятны для развития данного фитопатогена. В них могли сформироваться генотипы, устойчивые к пыльной головне. Для дальнейшего поиска источников устойчивости к этому возбудителю болезни целесообразно в полном объеме оценить афганские пшеницы, собранные с участков, на которых выявлены источники устойчивости. К числу источников других селекционно ценных признаков следует отнести образцы с высокой устойчивостью к осыпанию, имеющие высокое содержание лизина в зерне, устойчивые к засухе и жаростойкие (см. табл. 3).

Пшеница может попадать под засуху в различные фазы онтогенеза. Способность семян некоторых сортов и форм пшеницы прорасти и развиваться при недостатке влаги – один из признаков засухоустойчивости. Лабораторные методы, оценивающие прорастание семян на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением (16–18 атм.), т. е. в условиях «физиологической сухости», и всхожесть семян после прогревания при температуре +54 °С, близкой к коагуляции белков протоплазмы клеток, позволяют определить степень устойчивости прорастающих семян к стрессовым условиям. Оба лабораторных метода широко использовали для скрининга коллекции пшеницы ВИР, причем как косвенные методы определения засухо- и жаростойкости. Было показано, что результаты

Таблица 3

Распределение образцов-источников хозяйственно ценных признаков, выявленных среди афганской мягкой пшеницы коллекции ВИР по высоте над уровнем моря и степени засушливости климата (по данным оценки коллекций на ДОС ВИР, а также из: Будин и др., 1971; Пумпянский, 1971; Дорофеев и др., 1974; Кожушко, Волкова, 1978; Мягкова и др., 1981)

Признак	Номер по каталогу ВИР	Место сбора	
		Высота над уровнем моря, м	Категория климата
Скороспелость*	12611	380	ближе к засушливому
	12592	555	- " -
	12874	900	ближе к влажному
	12881	1100	- " -
	12661	2000	- " -
Устойчивость к осыпанию*	12514	1100	ближе к засушливому
	12618	2000	ближе к влажному
Высокое содержание лизина в зерне	12514	1100	ближе к засушливому
	12393	1400	- " -
	12480	2550	ближе к влажному
	12774	2600	влажный
Устойчивость к пыльной головне при искусственном заражении мягкой пшеницы в поле	48995	1840	ближе к влажному
	49101	2240	- " -
	49103	- " -	- " -
	49109	2560	очень влажный
	49106	2860	влажный
Прорастание семян на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением, 16 атм.	12880	660	ближе к засушливому
	12585	1800	ближе к влажному
	12750	1818	- " -
	12756	2120	- " -
	12572	2500	влажный
	12623	2600	очень влажный
То же и оценка всхожести семян после прогревания при +54 °С в течение 20 мин	12597	585	ближе к засушливому
	12608	579	- " -
	12614	1635	- " -
	12658	- " -	- " -
	49140	860	- " -
	49141	1400	влажный
Высокая (от 51 до 94 мл) набухаемость муки в уксусной кислоте	45496 и 45500	340	ближе к засушливому
	45498 и 45499	363	- " -
	45512 и 45516	853	- " -
	45343	930	- " -
	12514	1100	- " -
	12547	1630	ближе к влажному
	45521	2300	влажный
	12563	2410	очень влажный
	45539	2602	- " -

* По данным оценки коллекции на ДОС ВИР.

оценки по прорастанию семян в условиях «физиологической сухости» коррелировали ($r=0,71$) с полевой оценкой взрослых растений на засухоустойчивость (Дорофеев и др., 1974). Самый высокий процент коллекционных образцов, прорастающих на растворах сахарозы и после прогревания при температуре $+54\text{ }^{\circ}\text{C}$, был выявлен среди пшениц из стран Центральной Азии, включая азиатские республики бывшего СССР и Афганистан, а также Южной Америки – Чили. До сих пор очень мало информации о физиологических механизмах этих процессов (Nonogaki, 2006). Из данных табл. 3 можно видеть, что образцы, семена которых прорастают после «лабораторных обработок», собраны на разных высотах и в местах с различным климатом, в том числе «влажном» и «очень влажном». По-видимому, выявленная способность семян афганской мягкой пшеницы прорасти в стрессовых условиях не обязательно сопряжена с адаптацией к жаре или засухе.

Технологическая оценка 219 образцов мягкой пшеницы Афганистана показала, что большая часть образцов имеет клейковину низкого и среднего качества, которое определяли косвенным методом по набухаемости муки в уксусной кислоте (Пумпянский, 1971). В изученной выборке 22 образца характеризовались высокими и очень высокими показателями набухаемости муки (см. табл. 3). На основании величины этого показателя образцы были отнесены к группе сильных пшениц, пригодных для изготовления дрожжевого хлеба. Особенно высокие показатели были у образцов к-12514 (94 мл) и к-12674 (74 мл), результаты оценки на альвеографе, фаринографе и пробная лабораторная микровыпечка подтвердили их высокие хлебопекарные свойства.

Таким образом, образцы афганской мягкой пшеницы из коллекции ВИР обладают многими полезными для селекционного использования признаками, при этом выявленные источники разбросаны по разным высотам и местам сбора, различающимся по климатическим условиям.

Эффективность использования полиморфизма ДНК, в том числе коротких (длиной 2–6 п.н.) повторяющихся последовательностей, или микросателлитов (*Simple Sequence Repeats*, SSRs), известной локализации, для оценки генетического разнообразия пшеницы убедительно про-

демонстрирована во многих работах (Prasad *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2002; Khlestkina *et al.*, 2004; Balfourier *et al.*, 2007; Khanjari *et al.*, 2007a, b; Митрофанова и др., 2009; Peng *et al.*, 2009). В настоящем исследовании изучена выборка из 116 генотипов, случайно отобранных из местных сортов мягкой пшеницы, собранных в 100 различных пунктах Афганистана. Изучение проводили с использованием 13 пар SSR-праймеров. В каждом локусе идентифицировано от 3 до 22 аллелей, причем как часто встречающихся (от 2 до 5), так и уникальных (от 2 до 7 аллелей) для данной выборки. К уникальным относили аллели, выявляемые в одном генотипе (табл. 4). Исключение составили локусы *Xgwm149* и *Xgwm257*, по которым не обнаружены уникальные аллели. Величина индекса разнообразия локусов находилась в пределах от 0,52 до 0,91, в среднем составила $0,79 \pm 0,12$. Размеры фрагментов, продуцированных праймерами, варьировали от 89 до 242 п.н.

Частота отдельных аллелей МС-локусов изменялась от 0,9 до 68,1 %, при этом немногим более половины из 163 выявленных аллелей встречались менее чем у 5 % генотипов, а 42 аллеля – с частотой 10 % и более (рис. 2).

В целом высокий средний уровень аллельного разнообразия МС-локусов и высокая встречаемость многих аллелей свидетельствовали о пригодности этих молекулярных маркеров для оценки полиморфизма исследуемой выборки генотипов мягкой пшеницы.

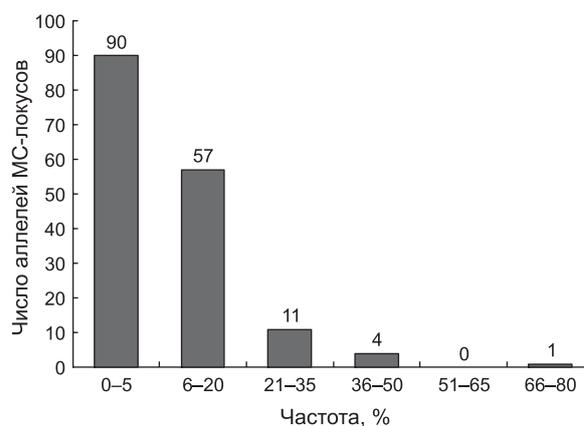


Рис. 2. Распределение по встречаемости аллелей МС-локусов, выявленных у 116 генотипов, случайно отобранных из местных сортов мягкой пшеницы Афганистана.

Таблица 4

Характеристика 13 микросателлитных локусов на основании изучения выборки из 116 генотипов, случайно отобранных из местных сортов афганской мягкой пшеницы

Локус	Хромосома	H	Размер фрагментов, п.н.	Число выявленных аллелей	Из них	
					уникальных	часто встречающихся ($\geq 10\%$)
<i>Xgwm413</i>	1B	0,81	89–111	9	2	4
<i>Xgwm257</i>	2B	0,66	192–196	3	0	3
<i>Xgwm261</i>	2D	0,52	166–210	10	3	2
<i>Xgwm285</i>	3B	0,87	206–242	18	7	3
<i>Xgwm341</i>	3D	0,91	122–162	20	3	2
<i>Xgwm610</i>	4A	0,74	159–197	12	6	3
<i>Xgwm149</i>	4B	0,76	153–169	6	0	3
<i>Xgwm186</i>	5A	0,81	102–156	14	5	3
<i>Xgwm190</i>	5D	0,87	196–220	13	2	5
<i>Xgwm626</i>	6B	0,67	104–135	9	3	3
<i>Xgwm469</i>	6D	0,84	151–177	12	3	4
<i>Xgwm46</i>	7B	0,91	143–193	22	6	3
<i>Xgwm437</i>	7D	0,90	97–133	15	2	4
Всего		0,79 ± 0,12		163	42	42

Для того чтобы выяснить характер различий между генотипами, собранными в местах, различающихся по высоте над уровнем моря и климату, в составе выборки были сформированы три субвыборки. № 1 – генотипы с высоты 601–1200 м над уровнем моря и климатом «ближе к засушливому», № 2 – с низинных территорий и таким же климатом и № 3 – с высот 1800 м и выше и «влажным» климатом. Численности субвыборок составили 53, 32 и 20 генотипов соответственно. Сравнительный анализ их показал, что они различаются по числу и наборам часто встречающихся и уникальных аллелей МС-локусов, при этом наиболее высокие значения индекса аллельного разнообразия локусов H были у субвыборки № 1 (табл. 5). Среди часто встречающихся аллелей в субвыборке № 2 не выявлены у локуса *Xgwm46* аллели размером 143 и 183 п.н., *Xgwm149* – 167 и 169 п.н., *Xgwm186* – 122 и 154 п.н., *Xgwm261* – 174 п.н., *Xgwm341* – 136 п.н. В субвыборке № 3 также наблюдали различия по аллелям четырех из перечисленных локусов, а именно по локусу *Xgwm46* не выявлены аллели размером 143 п.н., *Xgwm149* – 161 и 167 п.н., *Xgwm186* – 128 и 154 п.н. и *Xgwm341* – 136 п.н. Причинами этих различий могли быть

или ошибки выборки, или отражение существующей генетической дифференциации между местными сортами различных мест сбора. Однако оценка однородности субвыборок по частотам (данные не приведены) часто встречающихся 12 аллелей 7 МС-локусов (*Xgwm149* – аллели размером 153 и 163 п.н.; *Xgwm186* – 126 п.н.; *Xgwm257* – 192, 194 и 196 п.н.; *Xgwm261* – 176 п.н.; *Xgwm285* – 214 п.н.; *Xgwm610* – 169 и 171 п.н.; *Xgwm626* – 104 и 120 п.н.) с использованием критерия χ^2 продемонстрировала, что статистически достоверных различий между субвыборками по этой категории аллелей нет. Вычисленная величина $\chi^2 = 21,26$ при числе степеней свободы $\nu = 22$ была меньше значений этого критерия на любом стандартном уровне значимости. Оценка различий индексов разнообразия МС-локусов (H) при сравнении субвыборок с помощью парного критерия Вилкоксона показала статистически достоверные различия субвыборок № 1 и № 2 ($n_T = 2$ при $N = 10$); для субвыборок № 1 и № 3 ($n_T = 12,5$ при $N = 13$) невозможность как принять, так и отвергнуть нулевую гипотезу, и отсутствие статистически достоверных различий между субвыборками № 2 и № 3 ($n_T = 45,5$ при $N = 13$).

Таблица 5

Характеристика субвыборок генотипов по встречаемости аллелей и разнообразию микросателлитных локусов

Локус	Высота над уровнем моря, категория климата по засушливости					
	Субвыборка № 1 ($n = 53$): 601–1200 м, «засушливый» и «ближе к засушливому»		Субвыборка № 2 ($n = 32$): ≤ 600 м, «ближе к засушливому»		Субвыборка № 3 ($n = 20$): ≥ 1800 м, «влажный»	
	Число аллелей (из них уникальных)	H	Число аллелей (из них уникальных)	H	Число аллелей (из них уникальных)	H
<i>Xgwm46</i>	18 (2)	0,91	12 (2)	0,85	10 (1)	0,88
<i>Xgwm149</i>	6 (0)	0,81	4 (0)	0,69	4 (0)	0,63
<i>Xgwm186</i>	13 (4)	0,86	6 (0)	0,69	7 (1)	0,73
<i>Xgwm190</i>	11 (1)	0,85	11 (0)	0,87	9 (1)	0,86
<i>Xgwm257</i>	3 (0)	0,68	3 (0)	0,62	3 (0)	0,66
<i>Xgwm261</i>	9 (2)	0,57	5 (0)	0,50	3 (0)	0,34
<i>Xgwm285</i>	11 (1)	0,87	11 (1)	0,87	8 (2)	0,75
<i>Xgwm341</i>	15 (0)	0,89	15 (2)	0,89	10 (1)	0,88
<i>Xgwm413</i>	9 (2)	0,83	7 (0)	0,80	6 (0)	0,78
<i>Xgwm437</i>	13 (1)	0,87	11 (1)	0,87	10 (0)	0,89
<i>Xgwm469</i>	11 (2)	0,82	8 (1)	0,81	7 (0)	0,80
<i>Xgwm610</i>	10 (4)	0,75	4 (0)	0,68	8 (2)	0,79
<i>Xgwm626</i>	6 (4)	0,69	4 (0)	0,55	4 (1)	0,59
Всего аллелей	135 (20)		101 (8)		89 (9)	
Среднее на локус	10,4	0,80 ± 0,08	7,8	0,75 ± 0,13	6,9	0,74 ± 0,15

В кластерном анализе на основе сравнения наборов аллелей 13 МС-локусов все генотипы объединились в три большие группировки с неясной структурой (бутстреп-поддержка 0 %). Величина коэффициентов подобия Жаккара между генотипами варьировала от 0 до 1, средняя для выборки составила $0,88 \pm 0,03$. В каждой из группировок нередко вместе объединялись генотипы как из коллекции ВИР, так и АУСС-коллекции, т. е. 40 лет, прошедших между экспедициями, и многие десятилетия поддержания всхожести образцов в различных условиях не привели к какой-либо существенной их дивергенции. Кроме того, на дендрограмме присутствовали устойчивые группы из 2, 3 и 7 генотипов со значениями бутстреп-поддержки от 52 до 100 %. Всего 15 групп (рис. 3). Самую высокую бутстреп поддержку (96–100 %) имели группы (I, II, IX, X), образованные генотипами с идентичным набором аллелей изученных МС-локусов или генотипами, различающимися

по аллелям 1–2 локусов (III–V, XV). При этом генотипы, объединившиеся в эти устойчивые группы, принадлежали и коллекции ВИР, и австралийской коллекции. Места сбора местных сортов, из которых они были отобраны, различались. Исключением были группа XIII и 2 генотипа из группы II, в каждом из этих случаев генотипы имели одно место сбора. Что касается климата, то следует отметить образование двух групп с низкой бутстреп-поддержкой (4 и 44 %), состоящих из 5 наиболее сходных между собой генотипов каждая. Генотипы, объединившиеся в эти группы, были собраны в разных местах, но с климатом от «ближе к влажному» до «очень влажного».

Н.И. Вавилов включил всю территорию Афганистана в состав Среднеазиатского центра происхождения и разнообразия культурных растений и рассматривал эту страну как очаг первоначальной земледельческой культуры (Вавилов, 1935, 1987). Обследуя различные регионы этой

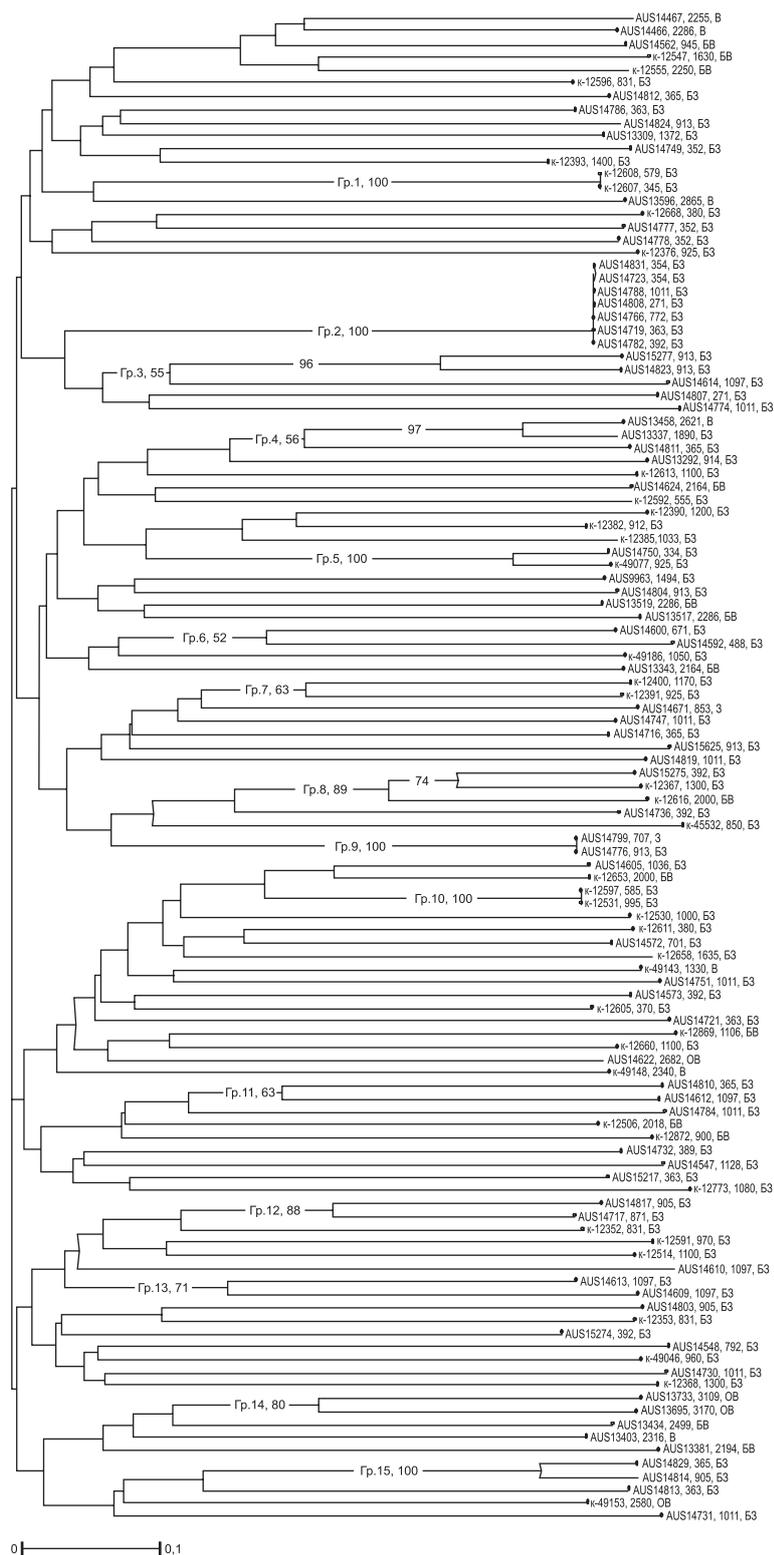


Рис. 3. Дендрограмма, построенная методом Neighbor-Joining на основе сравнения коэффициентов Жаккара, показывающих степень сходства наборов аллелей МС-локусов у 116 генотипов из 100 различных пунктов Афганистана.

Обозначения. I–XV – группы с высокой величиной бутстреп-поддержки; к-... и AUS ... – каталожные номера образцов в коллекциях ВИР и AWCC; 271–3170 – высота над уровнем моря (м); категории климата: БЗ – ближе к засушливому, БВ – ближе к влажному, З – засушливый, В – влажный, ОВ – очень влажный.

страны, он показал, что на высотах от 800 до 1800 м над уровнем моря сосредоточено мировое разнообразие ботанических разновидностей 42-хромосомной мягкой (*T. aestivum*) и карликовой (*T. compactum* Host) пшеницы. Сохранению разнообразия этих культур способствовали следующие факторы: наличие примитивных типов хозяйств, остающихся неизменными в течение длительного исторического периода, благодаря изолированному положению страны; разобщенность хозяйств из-за сложного горного рельефа местности, пестроты и традиций этнического состава населения (Вавилов, Букинич, 1959; Чеснов, 1977).

Полученные нами результаты показали, что сохраняемая в коллекции ВИР афганская мягкая пшеница в основном относится к азиатскому подвиду и представлена преимущественно остистыми формами. Эта пшеница обладает рядом отличительных признаков и свойств, присущих местным сортам. Представленный в ней запас наследственной изменчивости весьма богатый. Благодаря этому запасу среди афганской пшеницы выявлены источники различных признаков, ценных для селекции, и показано разнообразие генотипов по аллелям МС-локусов, в том числе наличие уникальных аллелей. По разнообразию аллелей этих локусов местные сорта (генотипы), собранные на участках, расположенных ниже 600 м над уровнем моря, имеющих климат, «засушливый» и «ближе к засушливому», достоверно беднее местных сортов (генотипов), собранных на высоте от 601 до 1200 м. Других закономерностей в распределении выявленного разнообразия мягкой пшеницы по исследованным признакам и МС-локусам, какие были бы связаны с высотой над уровнем моря и степенью засушливости климата, нами не обнаружено. На этом основании можно предположить, что имеющиеся в коллекции местные сорта генетически не дифференцированы относительно друг друга.

Сходные данные о потенциальной селекционной ценности мягкой пшеницы из Афганистана, ее генетическом однообразии в различных географических регионах этой страны получены также японскими учеными (Terasawa *et al.*, 2009). Они оценили генетическое разнообразие 400 образцов этой культуры по морфологическим признакам, составу аллелей запасного

белка зерновки – глютелина и полиморфизму ДНК с использованием AFLP-маркеров. Все изученные образцы были взяты из коллекции Киотского университета (Plant Germplasm Institute, Kyoto University), которые были собраны в Афганистане в 1955, 1965 и 1978 гг.

Нечеткая разделенность генетического разнообразия афганской мягкой пшеницы, собранной на разных высотах над уровнем моря и в местах с различным климатом по степени засушливости, возможно, определяется двумя причинами. Во-первых, отсутствием или слабым влиянием на эту пшеницу селекции. Как отмечал Н.И. Вавилов, для использования афганской пшеницы нужно учитывать ее малую «культурность» (Вавилов, Букинич, 1959. С. 240.). В ее составе нет местных сортов «типа полтавки, русака (сибирских ранних пшениц) в готовом виде, хотя и имеются элементы для сочетаний полтавки и русака»; во-вторых, существованием в Афганистане наряду с оседлыми земледельческими хозяйствами полуседлых, а также кочевых и полукочевых хозяйств скотоводческого типа (Вавилов, 1925). Участие в перекочевках большей части населения страны, иногда до 2,5 млн человек, перевозящих с собой и запасы зерна, может искусственно прерывать процесс внутривидовой дифференциации мягкой пшеницы, сопряженной с приспособлением ее к локальным почвенно-климатическим условиям, что, возможно, сдерживало дифференциацию пшеницы как на локальном, так и региональном уровнях.

Следует отметить, что для понимания эволюции гексаплоидной 42-хромосомной мягкой пшеницы, для которой не выявлено дикого предка с тем же геномным составом *AABBDD*, сохранение генофонда афганской пшеницы представляет особый научный интерес, поскольку эти пшеницы наравне с другими пшеницами из Среднеазиатского центра происхождения культурных растений могут быть одними из наиболее древних. Чтобы понять характер генетической дифференциации афганской пшеницы, по-видимому, нужны углубленные физиолого-биохимические исследования ее свойств и признаков, а также более широкий охват хромосом генома путем вовлечения в анализ дополнительных молекулярных маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

- Будин К.З., Конарев В.Г., Дорофеев В.Ф. и др. Каталог образцов пшениц из мировой коллекции ВИР с характеристикой содержания у них белка, лизина и триптофана. Л., 1971. Вып. 82. 126 с.
- Вавилов Н.И. Афганистанская экспедиция // Изв. ГИОА. 1925. Т. 3. № 1. С. 82–90.
- Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции. (Учение об исходном материале в селекции) // Теоретические основы селекции. М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. Т. 1. С. 17–74.
- Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений (1926) // Н.И. Вавилов. Происхождение и география культурных растений. Л.: Наука, 1987. С. 33–126.
- Вавилов Н.И., Букин Д.Д. Земледельческий Афганистан // Н.И. Вавилов. Избр. тр. в 5 т. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. Т. 1. С. 43–415.
- Дружин А.Е., Крупнов В.А. Пшеница и пыльная головня. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2008. 164 с.
- Дорофеев В.Ф., Руденко М.И., Удачин Р.А. и др. Засухоустойчивые пшеницы (методические указания) / Под ред. В.Ф. Дорофеева. Л.: ВИР, 1974. 186 с.
- Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
- Кожушко Н.Н., Волкова А.М. Засухоустойчивые и жаростойкие образцы яровой пшеницы разных стран мира. Л.: ВИР, 1978. 32 с. (Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 229).
- Митрофанова О.П., Стрельченко П.П., Конарев А.В., Балфурьер А. Генетическая дифференциация гексаплоидной пшеницы по данным анализа микросателлитных локусов // Генетика, 2009. Т. 45. № 11. С. 1351–1359.
- Мягкова Д.В., Григорьева О.Г., Вершинина В.А. и др. Яровая пшеница с характерной поражаемостью возбудителями бурой и стеблевой ржавчины, пыльной и твердой головни, мучнистой росы. Л.: ВИР, 1981. 79 с. (Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 304).
- Пумпянский А.Я. Технологические свойства мягких пшениц (по данным мировой коллекции ВИР). Л.: Колос, 1971. 320 с.
- Снесарев А.Е. Афганистан. 1935: <http://a-e-snesarev.narod.ru/trudi/glava1.html#1a>.
- Чеснов Я.В. Земледельческие культуры как этногенетический источник. 1977. URL: http://yanchesnov.awardspace.com/Articles/Agricultural_Societies_As_Ethnogenic_Source.htm (Дата обр. 12.07.2012).
- Шевчук Т.Н., Витковский В.Л. Отчет о поездке научных работников Всесоюзного института растениеводства в Афганистан. 1963. 32 с.
- Balfourier F., Roussel V., Strelchenko P. *et al.* A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate // *Theor. Appl. Genet.* 2007. V. 114. P. 1265–1275.
- Dreisigacker S., Zhang P., Warburton M.L. *et al.* Genetic diversity among and within CIMMYT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management // *Crop Sci.* 2005. V. 45. P. 653–661.
- Halloran G.M. Wheat collecting expedition to Afghanistan. 1965. URL: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/wis/No22/p12/2.html> (Дата обр. 12.07.2012)
- Huang X.Q., Borner A., Roder M.S., Ganal M.V. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers // *Theor. Appl. Genet.* 2002. V. 105. P. 699–707.
- Khanjari S.A.I., Hammer K., Buerkert A., Röder M.S. Molecular diversity of Omani wheat revealed by microsatellites: I. Tetraploid landraces // *Genet. Resour. Crop Evol.*, 2007a. V. 54. P. 1291–1300.
- Khanjari S.A.I., Hammer K., Buerkert A., Röder M.S. Molecular diversity of Omani wheat revealed by microsatellites: II. Hexaploid landraces // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2007b. V. 54. P. 1407–1417.
- Khlestkina E.K., Röder M.S., Efreмова T.T. *et al.* The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers // *Plant Breeding.* 2004. V. 123. P. 122–127.
- Laurentin H. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2009. V. 56. P. 277–292.
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1973. V. 70. No. 12. Part I. P. 3321–3323.
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics.* 1978. V. 89. P. 583–590.
- Nonogaki H. Seed germination – the biochemical and molecular mechanisms // *Breed. Sci.* 2006. V. 56. P. 93–105.
- Peng J.H., Bai Y., Haley S.D., Lapitan N.L.V. Microsatellite-based molecular diversity of bread wheat germplasm and association mapping of wheat resistance to the Russian wheat aphid // *Genetica.* 2009. V. 135. P. 95–122.
- Perrier X., Jacquemoud-Collet J.P. 2006. DARwin software URL: <http://darwin.cirad.fr/darwin> (Дата обр. 12.07.2012).
- Prasad M., Varshney R.K., Roy J.K. *et al.* The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 100. P. 584–592.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K. *et al.* A microsatellite map of wheat // *Genetics.* 1998. V. 149. P. 2007–2023.
- Terasawa Y., Kawahara T., Sasakuma T., Sasanuma T. Evaluation of the genetic diversity of an Afghan wheat collection based on morphological variation, HMW glutenin subunit polymorphisms, and AFLP // *Breed. Sci.* 2009. V. 59. P. 361–371.

**GENETIC DIVERSITY OF BREAD WHEAT LANDRACES COLLECTED
BY SCIENTIFIC EXPEDITIONS IN AFGHANISTAN****O.P. Mitrofanova¹, P.P. Strelchenko¹, E.V. Zuev¹, K. Street², J. Konopka², M. Mackay³**

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

² International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas, Syrian Arab Republic;

³ Australian Winter Cereals Collection, Australia

Summary

N.I. Vavilov considered the territory of Afghanistan where one of the initial farming centers was generated to be part of the Middle Asian center of crop origin and diversity. Hexaploid 42-chromosomal wheat with the genome constitution *AABBDD* was also attributed to that center. Scientific expeditions from different countries surveyed repeatedly the agricultural regions of Afghanistan to collect wild and cultivated plants. The collected material from those regions is preserved at various seed banks. The distribution of Afghani landraces of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) from the Vavilov Institute of Plant Industry and Australian collections depending on elevation above sea level and climatic conditions (humidity/aridity) is discussed. Data about sources of valuable traits for breeding identified among the accessions of Afghani bread wheat are presented. A set of 116 genotypes was analyzed for 13 microsatellite loci to investigate the structure of wheat genetic diversity.

Key words: bread wheat, landraces, collecting sites, microsatellite markers, genetic diversity, Afghanistan.