

Scientific Peer Reviewed Journal

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

Founded in 1997

Научный рецензируемый журнал

ВАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

Основан в 1997 г.

Founders

Federal State Budget Scientific Institution "The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"

The Vavilov Society of Geneticists and Breeders

Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Учредители

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Межрегиональная общественная организация Вавиловское общество генетиков и селекционеров

Сибирское отделение Российской академии наук

Chief Editor

V.K. Shumny

Главный редактор

В.К. Шумный

Editorial Board

N.A. Kolchanov (Deputy Editor-in-Chief),

I.K. Zakharov (Deputy Editor-in-Chief),

S.G. Inge-Vechtomov, S.V. Shestakov,

I.F. Zhimulev, L.V. Khotyleva, I.A. Tikhonovich,

V.P. Puzyrev, I.A. Zakharov-Gezekhus,

N.K. Yankovsky, V.N. Stegnyy, D.P. Furman

Редакционная коллегия

Н.А. Колчанов (зам. главного редактора),

И.К. Захаров (зам. главного редактора),

С.Г. Инге-Вечтомов, С.В. Шестаков,

И.Ф. Жимулев, Л.В. Хотылева, И.А. Тихонович,

В.П. Пузырев, И.А. Захаров-Гезехус,

Н.К. Янковский, В.Н. Стегний, Д.П. Фурман

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

«Вавиловский журнал генетики и селекции»
включен ВАК Минобрнауки России в **Перечень**
рецензируемых научных изданий, в которых
должны быть опубликованы основные результаты
диссертаций на соискание ученой степени
кандидата наук, на соискание ученой степени

доктора наук (редакция от 25.05.2015 г.:
<http://vak.ed.gov.ru/87/>), Российский индекс
научного цитирования, базу данных Ulrich's
Periodicals Directory, Google Scholar.

Электронная версия журнала размещена
на сайте bionet.nsc.ru/vogis/ и платформе
Научной электронной библиотеки elibrary.ru.

Подписку на «Вавиловский журнал генетики
и селекции» можно оформить в любом почтовом
отделении России. Индекс издания 42153
по каталогу «Пресса России».

© ИЦиГ СО РАН, 2015
© Вавиловский журнал генетики
и селекции, 2015
© Сибирское отделение Российской
академии наук, 2015

Содержание

Генетика и селекция растений

- 154 Перспективы использования диких сородичей в селекции гороха (*Pisum sativum* L.)
О.Э. Костерин
- 165 Изучение линий *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides*, устойчивых к листовой и стеблевой ржавчинам
С.Н. Сибикеев, С.А. Воронина, Е.Д. Бадаева, А.Е. Дружин
- 171 Изменение солеустойчивости мягкой пшеницы в результате интрогрессии генетического материала *Aegilops speltoides* и *Triticum timopheevii*
Р.С. Юдина, И.Н. Леонова, Е.А. Салина, Е.К. Хлесткина
- 176 Возможности создания сортов яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с широкой изменчивостью параметров вегетационного периода
П.Н. Мальчиков, М.Г. Мясникова
- 185 Изменчивость высоты растений гибридных форм яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) как способ их адаптации в различных эколого-географических условиях
Е.И. Рипбергер, Н.А. Боме, Д. Траути
- 191 Создание и оценка сортов ячменя озимого на групповую устойчивость к головневым заболеваниям
И.Б. Легкун
- 197 Генетический контроль признаков, связанных с усвоением фосфора у сортов риса (*Oryza sativa* L.)
Ю.К. Гончарова, Е.М. Харитонов
- 205 CAPS-маркеры в биологии растений
Ю.Н. Шавруков

Физиологическая генетика

- 214 Внутрисуточный ритм секреции глюкокортикоидов и динамика генного ответа
В.М. Меркулов, Н.В. Климова, Т.И. Меркулова

Генетика и селекция животных

- 222 Динамика биоразнообразия отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга
Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, В.А. Багиров, Г. Брем
- 226 Оборонительная реакция у соболей (*Martes zibellina*) при промышленном разведении
Е.Г. Сергеев

Сто лет хромосомной теории наследственности

- 234 Механизм менделевской наследственности (к столетию опубликования монографии “The Mechanism of Mendelian Heredity” группой Т.Х. Моргана)
Е.Б. Музрукова

Content

Plant genetics and breeding

- 154 Prospects of the use of wild relatives for pea (*Pisum sativum* L.) breeding
O.E. Kosterin
- 165 Study of resistance to leaf and stem rusts in *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides* lines
S.N. Sibikeev, S.A. Voronina, E.D. Badaeva, A.E. Druzhin
- 171 Change of salt tolerance in common wheat after introgression of genetic material from *Aegilops speltoides* and *Triticum timopheevii*
R.S. Yudina, I.N. Leonova, E.A. Salina, E.K. Khlestkina
- 176 Approaches to the development of durum wheat cultivars (*Triticum durum* Desf.) with wide variability of the growing season
P.N. Malchikov, M.G. Myasnikova
- 185 Variability of the height of plants of hybrid forms of spring common wheat (*Triticum aestivum* L.) under different ecological and geographical conditions
E.I. Ripberger, N.A. Bome, D. Trautz
- 191 Development and evaluation of winter barley varieties for group resistance to smut diseases
I.B. Legkun
- 197 Genetic control of traits determining phosphorus uptake by rice varieties (*Oryza sativa* L.)
J.K. Goncharova, E.M. Kharitonov
- 205 CAPS markers in plant biology
Y.N. Shavrukov

Physiological genetics

- 214 The ultradian rhythm of glucocorticoid secretion and the time course of target gene regulation
V.M. Merkulov, N.V. Klimova, T.I. Merkulova

Animal genetics and breeding

- 222 Dynamics of the biodiversity of black and white cattle influenced by cross-breeding
N.A. Zinovieva, E.A. Gladyr, V.A. Bagirov, G. Brem
- 226 Defensive response to humans in farm-bred sables (*Martes zibellina*)
E.G. Sergeev

Centenary of the chromosome theory of inheritance

- 234 «The Mechanism of Mendelian Heredity» (The 100th anniversary of the first publication of the book by the group of T.H. Morgan)
E.B. Muzrukova

Перспективы использования диких сородичей в селекции гороха (*Pisum sativum* L.)

О.Э. Костерин^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Потенциал дикорастущих сородичей как важного источника генетического разнообразия для селекции далеко не исчерпан. У гороха они представлены видом *Pisum fulvum* и подвидом *P. sativum* subsp. *elatius*. Дикорастущие представители подвида *P. abyssinicum* не известны. Дикие формы гороха характеризуются раскрываемостью (растрескиванием) зрелых бобов и баллистическим рассеиванием семян. Культурный горох представляет небольшую филетическую ветвь даже внутри *P. sativum*. Перспективные направления использования диких форм гороха: 1) устойчивость к вредителям и патогенам; 2) устойчивость к абиотическому стрессу; 3) питательная и кормовая ценность; 4) агротехнические преимущества (ветвистость, зимостойкость и пр.); 5) симбиотическая азотфиксация. *P. fulvum* устойчив к гороховой зерновке, ржавчине, мучнистой росе и аскохитозу. Некоторые *P. sativum* subsp. *elatius* устойчивы к нематоду, заразихе, мучнистой росе, фузариозам, аскохитозу и белой гнили. *Pisum sativum* subsp. *elatius* реагируют на яйцекладку зерновки разрастаниями стенки боба, контролируемые геном *Np*. *Pisum abyssinicum* устойчив к нематоду и стеблевой гнили. У *P. fulvum* высокая скорость роста корней, у некоторых *P. sativum* subsp. *elatius* снижена испаряемость влаги, а образец JI2055 из Италии выживает при -20°C . QTL-анализ проведен для признаков устойчивости *P. fulvum* к зерновке, мучнистой росе и ржавчине и для устойчивости *P. sativum* subsp. *elatius* к заразихе, стеблевой гнили, аскохитозу. Получены интрогрессивные линии, перенесшие устойчивость к зерновке от *P. fulvum* к *P. sativum*. Практическому использованию диких форм гороха препятствует недостаточная информированность об их разнообразии и отличиях от культурных. Необходимо интенсифицировать исследования полезных свойств диких сородичей гороха и выявление их природного разнообразия, которое стремительно исчезает.

Ключевые слова: *Pisum sativum*; *Pisum sativum* subsp. *elatius*; *Pisum fulvum*; *Pisum abyssinicum*; горох; дикие сородичи; устойчивость к патогенам; устойчивость к вредителям; QTL-анализ; селекция; генетическое разнообразие.

Prospects of the use of wild relatives for pea (*Pisum sativum* L.) breeding

O.E. Kosterin^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

The current global climate change results in shift and shrinkage of ranges of crop cultivation. The potential of crop wild relatives as an important source of genetic diversity for breeding is underestimated. Wild relatives of pea include the species *P. fulvum* and the subspecies *P. sativum* subsp. *elatius*, whereas wild representatives of *P. abyssinicum* are unknown. Wild peas are characterized by spontaneous dehiscence of pods and ballistic seed spread. The cultivated pea represents just a phyletic lineage within *P. sativum*. Pea crop wild relatives are promising with respect to: (1) resistance to pests and pathogens; (2) resistance to abiotic stress; (3) nutritional value; (4) agrotechnical advantages, e.g. branching, ability of hibernation etc.; (5) symbiotic nitrogen fixation (almost no data); etc. *P. fulvum* is resistant to pea weevil, rust, powdery mildew and ascochyta blight. Some *P. sativum* subsp. *elatius* are resistant to nematodes, broomrape, powdery mildew, Fusarium wilt, powdery mildew, root rot, ascochyta blight and white wilt. *P. sativum* subsp. *elatius* responds to weevil oviposition by neoplastic pustules of the pod wall controlled by the locus *Np*. *Pisum abyssinicum* shows resistance to nematodes and bacterial blight. *P. fulvum* has a high rate of root growth. Some *P. sativum* subsp. *elatius* accessions have lowered transpiration rates, and an accession from Italy survives at -20°C . Analyses of quantitative trait loci have been carried out for resistance of *P. fulvum* to pea weevil, powdery mildew and rust and for resistance of *P. sativum* subsp. *elatius* to broomrape, bacterial blight and ascochyta blight. Aryamanesh et al. (2012) obtained five introgression lines with pea weevil resistance transferred from *P. fulvum* to *P. sativum*. The practical use of wild peas is hampered by insufficient awareness of their diversity and differences from cultivated peas. Studies of useful traits of wild peas and their natural diversity, which is rapidly vanishing, should be intensified.

Key words: *Pisum sativum*; *Pisum sativum* subsp. *elatius*; *Pisum fulvum*; *Pisum abyssinicum*; pea; crop wild relatives; resistance to pathogens; resistance to pests; QTL analysis; breeding; prebreeding; genetic diversity.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Костерин О.Э. Перспективы использования диких сородичей в селекции гороха (*Pisum sativum* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):154-164. DOI 10.18699/VJ15.019

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Kosterin O.E. Prospects of the use of wild relatives for pea (*Pisum sativum* L.) breeding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):154-164. DOI 10.18699/VJ15.019

DOI 10.18699/VJ15.019

УДК 581.2+581.5+633.35+632

Поступила в редакцию 13.02.2015 г.

Принята к публикации 27.03.2015 г.

© АВТОР, 2015

Сельскохозяйственное производство невозможно без селекции. Даже архаичное производящее хозяйство предполагало бессознательный отбор в пользу так называемого доместикационного синдрома (Hammer, 1984; Weeden, 2007). Это автоматически означает отбор на семенную продуктивность, так как она повышает вероятность попадания потомков в следующее поколение. Современное сельское хозяйство основывается на целенаправленной селекции, использующей арсенал методов от традиционных до генно-инженерных. В настоящее время перед селекцией возникли новые задачи, такие как увеличение продуктивности на единицу посевной площади, в связи со стремительно растущим населением Земли, а также адаптация культур к меняющемуся климату.

Продолжающееся сейчас глобальное потепление (в чем бы ни состояли его причины) изменяет условия произрастания сельскохозяйственных культур даже в кратковременном масштабе (десятки лет). Показано, что потепление, наблюдавшееся с 1981 по 2002 гг. по всему земному шару, привело к потерям урожая основных культур – около 40 млн т (5 млрд долларов) (Lobell, Field, 2007).

Немного известно о реакции на потепление у гороха. Температуры выше +27 °С снижают урожай, а выше +30 °С нарушают прорастание семян. Повышенное содержание CO₂ в атмосфере смягчает негативный эффект высокой температуры на тургор гороха, но может снизить устойчивость фотосинтеза к резким потеплениям. Современные «полубезлистные» (безлисточковые, гомозиготные по мутации *af*) сорта гороха более устойчивы к засухе (Coyne et al., 2011; Redden et al., 2011). Эти немногие исследования проводились на современных сортах, тогда как реакция стародавних сортов, особенно происходящих из теплых регионов, и диких форм не изучалась. В долговременном масштабе потепление смещает области, благоприятные для возделывания определенных культур, к северу (Hatfield, 2011), при этом климатические аппроксимации показывают, что для большинства культур эти площади сократятся (Ramirez-Villegas et al., 2013).

Любая селекция основана на таком важнейшем факторе, как ресурс исходного генетического разнообразия. Между тем для большинства культур генетическое разнообразие, доступное для традиционной селекции, как бы велико оно не было, оказывается лишь малой частью потенциально возможного для данного вида растений. Доместикация большинства культурных растений происходила в ограниченном районе (реже в нескольких), откуда практика возделывания данной культуры распространялась вместе с генетическим пулом, который был вовлечен в доместикационное событие. В последнее время данная точка зрения оспаривается сторонниками так называемой продолженной модели доместикации (*protracted mode of domestication*) (Tanno, Wilcox, 2006; Weiss et al., 2006; Fuller, 2007; Allaby et al., 2008; Brown et al., 2009; Glémin, Battailon, 2009; Fuller et al., 2011, 2012; Asouti, Fuller, 2012). Эти авторы предполагают, что доместикация культур ближневосточного происхождения протекала по всей территории так называемого Плодородного полумесяца, включающего возвышенности Палестины и Ливана, Тавр, Антитавр, Загрота и бассейны Иордана, Оронта и истоков Тигра и Евфрата, т. е. на территории около 750 × 1 500 км,

и была постепенным процессом, продолжавшимся около 3 тыс. лет. Сторонники более традиционной, но несколько утрированной, точки зрения «первоначального ядра» (*core area*), полагают, что доместикация исходного набора ближневосточных культур протекала в течение всего лишь сотен лет и имела место на территории не более 150 × 250 км, расположенной в двух вилайетах Турции, Мардин и Диярбакыр, т. е. в турецком Курдистане (Lev-Yadun et al., 2000; Gopher et al., 2001; Abbo et al., 2010a; 2011a, 2012, 2013), где и в настоящее время распространены растительные сообщества, включающие нескольких предков первоначальных культур, совместно наблюдаемых на площадках размером до одного квадратного метра (Abbo et al., 2013). Жаркая дискуссия между этими двумя «партиями» продолжается на страницах самых престижных журналов до сих пор. Целесообразно взглянуть, как обстоят дела с культурой, которой посвящена наша работа – горохом.

Природное генетическое разнообразие не только рода Горох (*Pisum* L.), но и непосредственно вида Горох посевной (*Pisum sativum* L.), дикие представители которого широко распространены в Средиземноморье и Передней Азии, осталось за рамками как исследований, проводившихся в первой половине XX столетия, так и селекционной работы с горохом, почти до конца XX в. Скрытое природное генетическое разнообразие гороха стало выявляться при попытках реконструкции филогении рода молекулярными методами с привлечением диких форм. Надо сказать, что их общее количество было довольно невелико. Тем не менее данные, полученные на основании самых разных молекулярных маркеров (Hoeoy et al., 1996; Lu et al., 1996; Ellis et al., 1998), в частности полиформизма по inserциям ретротранспозонов (Vershini et al., 2003; Jing et al., 2010) и первичной структуры кодирующей части ряда структурных генов (Jing et al., 2007; Zaytseva et al., 2012, 2015), однозначно показали, что культивируемый посевной горох представляет лишь одну из множества филетических ветвей гороха, тогда как большинство прочих ветвей было представлено в анализах небольшим числом образцов и к тому же никогда не вовлекалось в селекционный процесс. (Исключение составляет *Pisum abyssinicum*, для которого все реконструкции указывают на доместикацию, независимую от *P. sativum* subsp. *sativum*.) Специальное исследование 121 маркера, включая изозимы и ДНК-маркеры, относящиеся к классам RAPD, SSR и STS-маркеров, выявило очень небольшое генетическое разнообразие европейских сортов в сравнении с широким разнообразием, присущим виду в целом (Baranger et al., 2004). В этой работе был, в частности, предложен «ключевой» набор (*core collection*) из 43 образцов, обладающих в сумме 237 (96 %) аллелями из 245 выявленных у всех 148 исследованных образцов. В дальнейшем узкое генетическое разнообразие современного культурного гороха неоднократно констатировалось и другими авторами (Smýkal et al., 2010, 2012).

Весьма симптоматичен тот факт, что максимальное генетическое разнообразие культурного гороха было выявлено Л.И. Говоровым (1928) в Афганистане. В связи с господствовавшей в то время точкой зрения Н.И. Вавилова, согласно которой центры генетического разнообразия совпадают с центрами доместикации (Вавилов, 1926,

1927, 1929), Говоров предположил, что Афганистан и есть тот регион, где горох был введен в культуру. Между тем в Афганистане никем никогда не был обнаружен дикий горох. Более того, горох принадлежит к средиземноморскому флористическому комплексу. Восточная граница естественного ареала рода *Pisum*, по всей видимости, совпадает с границей Хорасанской подпровинции Ирано-Анатолийской, или Армено-Иранской флористической провинции и Туркестанской флористической провинции (Zohary, 1973; Тахтаджян, 1978). Эта граница имеет почти меридиональное направление и проходит по Систан-Герирудской депрессии между горами Копет-Дага и Хорасана с одной стороны и Кугитангтау (системы Памиро-Алая), Паропамизом и Среднеафганскими горами (иногда их относят к Иранскому нагорью, хотя в действительности они являются западными отрогами Гиндукуша) – с другой, т. е. хорошо совпадает с восточной границей Ирана. Между тем древнейшие археологические находки гороха находятся в пределах Леванта (Fuller et al., 2011, 2012). Таким образом, Афганистан никоим образом не является центром доместикации гороха. Точка зрения Н.И. Вавилова о совпадении центров разнообразия и доместикации, критикованная еще при его жизни (Шльков, 1936, 1937) также в настоящее время в целом отвергнута (Harlan, 1992; Гончаров, 2014) и соответствует действительности лишь в тех случаях, когда доместикация случайно имела место в центре генетического разнообразия вида в природе, как у мягкой пшеницы и ржи (Жуковский, 1971; Гончаров и др., 2007). Возможно, Афганистан, находившийся на пересечении многих культурно-исторических и миграционных волн, аккумуляровал разнообразие гороха, возникшее уже в культуре, т. е. в течение последних 10–12 тыс. лет. Вклад автохтонных диких форм в генотип некоторых из традиционных афганских форм культивируемого гороха теоретически нельзя исключить, но он требует генетического подтверждения, притом что присутствие самих таких форм в регионе неизвестно. Так или иначе, генетическое разнообразие дикого гороха в Передней Азии значительно превосходит разнообразие культурного гороха в Афганистане, хотя оно привлекло к себе недостаточно внимания и остается малоизвестным.

Дикие формы в последней системе рода *Pisum* L.

Во избежание разнобоя и недопонимания мы будем следовать последней опубликованной системе рода, по Н. Макстеду и М. Амброузу (Maxted, Ambrose, 2001), даже если авторы цитируемых источников придерживались иных таксономических трактовок. К сожалению, авторы обзоров и экспериментальных работ, вовлекающих разнородный материал, как правило, избирают иную стратегию и некритично воспроизводят таксономические концепции своих источников, тем самым поддерживая и углубляя существующую таксономическую путаницу.

Система Макстеда и Амброуза (Maxted, Ambrose, 2001) очень проста, что является наилучшим решением ввиду очень сложной структуры обширной и недостаточно изученной изменчивости в пределах рода *Pisum*, с трудом вписывающейся в традиционную биологическую классификацию с иерархической системой таксонов. В целом

она следует трактовкам, предложенным ранее Таунсендом (Townsend, 1968) и Дэвисом (Davis, 1970). В этой системе принимаются три вида:

1. Горох красно-желтый (*Pisum fulvum* Sibth et Smith.) – хорошо морфологически очерченный и признаваемый всеми исследователями дикорастущий вид, распространенный в Леванте и, по-видимому, заходящий в Малую Азию и Аравию (Говоров, 1937; Макашева, 1979).

2. Горох посевной (*Pisum sativum* L.), отличающийся большим морфологическим и генетическим разнообразием. Встречается в диком состоянии на огромной территории Средиземноморья и Передней Азии, в культуре распространен по всему миру. В системе Макстеда и Амброуза принято условное деление посевного гороха на два подвида, дикий и культурный: культурные формы относятся к подвиду *P. sativum* L. subsp. *sativum*, а все дикие формы объединены в подвид *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Asch. & Graebn. sensu lato (вопрос об авторстве таксона в подвидовом ранге дискусионен (см. Макашева, 1979; Kosterin, Bogdanova, 2008). Низкорослые дикие формы, ранее рассматривавшиеся как вид *P. humile* Boiss et Noë (название является младшим омонимом *P. humile* Miller) или подвид *P. sativum* L. subsp. *syriacum* (Boiss et Noë) Berger в системе Макстеда и Амброуза, принимаются в качестве вариации *P. sativum* L. subsp. *elatius* var. *pumilio* (Boiss et Noë) Meikle вслед за Davis (1969). Данное подвидовое деление с доместицированностью в качестве единственного диагностического признака не учитывает существования среди диких представителей многих филогенетических линий (Kosterin, Bogdanova, 2008; Zaytseva et al., 2012), тем не менее оно является удобным практическим компромиссом, оставляя в стороне сложную проблему построения филогенетически оправданной классификации вида (Kosterin, Bogdanova, 2008).

3. Горох абиссинский (*Pisum abyssinicum* A. Br.) (по другим классификациям – подвид посевного гороха *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger), – генетически весьма однородный таксон, эндемичный для Эфиопии и Йемена, морфологически сходный с *P. sativum* и, по сути, являющийся его обособившейся эволюционной линией. (Признание видового статуса *P. abyssinicum* делает вид *P. sativum* парафилетичным, что не соответствует принципам строго филогенетической классификации – кладистики.) Этот таксон известен в культуре, а указания на его существование в диком состоянии в старой литературе (Говоров, 1937; Макашева, 1979) вызывают сомнения, по-видимому, являясь недостаточно обоснованными экстраполяциями. В данной статье этот вид упоминается в виде исключения, как независимо одомашненная эндемичная форма гороха, к настоящему времени исчезнувшая из дикой природной среды.

Критерий «дикости»

Вопреки довольно распространенному мнению, практически любая форма гороха может быть однозначно классифицирована как дикая либо культурная по ключевому признаку – «спонтанная раскрываемость бобов» (Waines, 1975; Ladizinsky, 1979; Weeden, 2007; Ambrose, Ellis, 2008; Kosterin et al., 2010). Обычно применяющийся в русскоязычной литературе термин «растрескиваемость»

недостаточно адекватно описывает явление, так как никаких «трещин» не образуется. При созревании и высухании створки бобов диких форм внезапно спонтанно раскрываются по верхнему шву и стремительно спирально закручиваются вдоль своей оси, придавая раскрытым бобам характерный V-образный облик (рисунок). Зрелые семена выстреливаются на значительное расстояние – вплоть до 360 см (Ambrose, Ellis, 2008). Бобы культурных форм либо не раскрываются вовсе, либо раскрываются спустя значительное время при высоких температурах, при этом их створки слабо или почти не сворачиваются и семена не выстреливаются.

Раскрываемость бобов определяется (полу)доминантным аллелем гена *Dpo* (*Dehiscing pod*) (Marx, 1971). Были сообщения также о дополнительном локусе *Dpo2* (Weeden et al., 2002; Ambrose, Ellis, 2008). Хотя по склонности к раскрываемости бобов имеется изменчивость (Ambrose, Ellis, 2008), никаких сомнений по классификации бобов (как раскрывающихся или нераскрывающихся) не возникает. В наших исследованиях по генетике гороха, проводившихся с середины 80-х годов прошлого века по настоящее время, мы не сталкивались с промежуточным состоянием признака. В частности, в условиях теплицы ИЦиГ СО РАН гибриды первого поколения между диким и культурным горохом всегда имеют раскрывающиеся бобы, т. е. аллели соответствующих генов проявляют доминантность. Два образца *P. sativum* subsp. *elatius* с нераскрывающимися бобами, J1199 и J12201 (= VIR1947) из Израиля и Краснодарского края, о которых сообщается в работе Ambrose и Ellis (2008), в связи с этим свойством не следует относить к данному таксону (Kosterin et al., 2010).

Раскрываемость бобов имеет решающее значение, так как она связана с противоположными стратегиями размножения диких и культурных форм: первые сталкиваются с проблемой расселения в природе и в данном случае решают ее баллистически, путем выстреливания семян, вторые «ожидают жнеца» (Waines, 1975; Ladizinsky, 1979; Weeden, 2007). Таким образом, растения с нераскры-



Дикий горох *Pisum sativum* subsp. *elatius* в засохшем состоянии, с раскрытыми створками бобов, растущий на склонах холмов левого борта долины р. Ангуэйра в 1,4 км к северо-востоку от с. Ува, муниципалитет Вимиозу, округ Браганса, провинция Траш-уш-Монтш Э Альто Дору, Португалия, 8 июля 2010 г. (фото автора).

вающимися бобами не могут распространяться в природе, а с раскрывающимися невозможно эффективно культивировать. В данной ситуации действует дизруптивный отбор, направленный на сохранение диких форм дикими, а культурных – культурными (Glémin, Battailon, 2012). Тем самым даже потомки от спонтанных скрещиваний между культурными и дикими формами (возможность которых не исключается) сразу существуют либо как дикие, либо как культурные растения, в зависимости от генотипа по *Dpo*, и пополняют собой соответствующие генофонды.

Потенциально хозяйственно ценные свойства диких форм гороха

Генетическое разнообразие диких форм гороха перспективно для селекции прежде всего по следующим направлениям:

1) устойчивость к вредителям и широкому спектру патогенов (подробно рассмотрено ниже);

2) устойчивость к абиотическому стрессу, прежде всего к экстремальным температурам (Ali et al., 1994; Coyne et al., 2011);

3) питательная и кормовая ценность (North et al., 1989; Domoney et al., 1991; Bastianelli et al., 1998; Heng et al., 2006);

4) агротехнические преимущества, такие как ветвистость (Murfet, Reid, 1993), возможность зимовки;

5) особенности симбиотической азотфиксации.

Объем данных, имеющийся по каждому из этих пунктов, убывает в порядке их приведения. Лучше всего изучен вопрос устойчивости.

Известно, что *P. fulvum* устойчив к гороховой зерновке (*Bruchus pisorum* L.) (Clement et al., 2002, 2009; Byrne et al., 2008; Aryamanesh et al., 2012, 2014), ржавчине (Barilli et al., 2009, 2010), мучнистой росе (полная устойчивость) (Fondevilla et al., 2007b) и аскохитозу (Wroth, 1998; Fondevilla et al., 2005; Carrillo et al., 2013). Стенки бобов *P. sativum* subsp. *elatius* s.l., как и большинства местных форм культурного гороха, происходящих с Балкан и Передней Азии, реагируют на яйцекладку гороховой зерновки путем каллусообразного разрастания эпидермиса, иногда способного сбросить яйцо жука (Berdnikov et al., 1992). Впервые такая реакция была описана у культурного гороха Вилковой с соавт. (1977). Небезынтересно, что это явление вообще не свойственно *P. fulvum*, устойчивость которого к зерновке достигается иными способами (Berdnikov et al., 1992).

Некоторые из диких форм посевного гороха (*P. sativum* subsp. *elatius*) показали устойчивость к нематоде *Heterodera goettingiana* Liebscher (Vito, Perrino, 1978), заразившей *Orobanche crenata* Forsk. (Valderrama et al., 2004), мучнистой росе (Fondevilla et al., 2007a, 2008, 2011), фузариозам (McPhee et al., 1999; Hance et al., 2004), аскохитозу (Fondevilla et al., 2005; Carrillo et al., 2014) и белой гнили, вызываемой *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Porter et al., 2009). Абиссинский горох продемонстрировал устойчивость к нематоде *H. goettingiana* (Vito, Perrino, 1978) и стеблевой гнили, вызываемой *Pseudomonas syringae* (Holloway et al., 2007).

Дикие формы также рассматриваются как перспективные генетические ресурсы для преодоления различных вариантов абиотического стресса: у *P. fulvum* наблюдается высокая скорость роста корней и на большую глубину, у некоторых *P. sativum* subsp. *elatius* снижена испаряемость влаги, а относящийся к этому таксону образец JI2055 из Италии выживает при температурах до -20°C (Ali et al., 1994).

Казалось бы, дикие формы гороха должны быть перспективны в плане исходного генетического разнообразия для селекции в направлении интенсивности симбиотической азотфиксации. Этот вопрос был исследован Т.А. Ли с соавт. (Lie, 1978, 1981, 1984; Lie et al., 1987). Их результаты свидетельствуют о том, что селекция по этому признаку с использованием данных форм осложнилась бы проблемой совместимости растения и бактериального симбионта и если и возможна, то требует нетривиального подхода. Авторы выявили существенную коэволюцию форм гороха и штаммов *Rhizobium leguminosarum*, приводящую к когерентной региональной дивергенции тех и других.

Так, симбиоз с *Pisum fulvum* могли образовывать лишь штаммы ризобия из почв Израиля, примитивная культурная линия гороха из Афганистана только со штаммами из почв Передней и Средней Азии, а в южной Турции была найдена линия гороха, неспособная к симбиозу со штаммами, имеющимися в почвах из других районов страны (Lie, 1981; Lie et al., 1987). В целом штаммы из почв Афганистана, Турции и Израиля обладают широкой специфичностью и индуцируют нодуляцию у большинства форм посевного гороха, тогда как европейские штаммы оказываются совместимыми с европейскими и лишь с частью азиатских культурных форм (Young, Matthews, 1982; Young et al., 1982). Это и неудивительно, так как Передняя Азия – родина культурного гороха. Не исключено, что европейский штамм изначально предсуществовал в природе как симбионт местных диких видов бобовых (каковым он действительно является), а при проникновении в Европу культуры гороха отобрались совместимые с ним формы (Young, Matthews, 1982). Таким образом, если среди диких форм гороха найдутся образцы с повышенной азотфиксацией (чего пока не произошло), селекция с их использованием может потребовать одновременного вовлечения полезных генов как растения, так и бактериального симбионта, включая районирование сортов только в областях распространения соответствующих им штаммов ризобия либо проведение агротехнических мероприятий по инокуляции почв этими штаммами (Борисов и др., 2011).

Генетический анализ хозяйственно ценных свойств диких форм гороха

На пути к использованию генетического разнообразия диких форм гороха в селекции в последнее время достигнуты некоторые, пока довольно скромные, успехи. Речь идет о создании исходного материала, перспективного для селекции (чему в англоязычной литературе соответствует термин «pre-breeding», иногда употребляется его русский перевод: «предселекция»). Первым этапом является генетический анализ наследования хозяйственно ценных признаков.

P. fulvum известен устойчивостью к гороховой зерновке, связанной со смертностью личинок сразу после вылупа на поверхности бобов, в стенках бобов и семенах (Clement et al., 2009). Коллектив австралийских ученых провел генетический анализ компонент устойчивости гороха к зерновке, связанный с устойчивостью развивающихся семян (а не стенок бобов), в трех поколениях популяции гибридов *P. fulvum* с посевным горохом и сделал вывод о том, что она контролируется тригенно (соотношение фенотипов 1:63) одновременным присутствием в трех разных локусах рецессивных аллелей от *P. fulvum* в гомозиготе (Byrne et al., 2008). Такая модель наследования предполагала, что устойчивость семян к зерновке может быть перенесена в посевной горох путем беккроссов, но с большим трудом и с использованием многочисленных популяций гибридов. В то же время коллектив американских исследователей (Clement et al., 2009) обнаружил существенную устойчивость к зерновке в не слишком многочисленных популяциях второго и третьего поколений гибридов посевного гороха и *P. fulvum*, причем она

определялась свойствами не только семян, но и бобов, в частности, влияющими на поведение выведшихся из яиц личинок (немедленное углубление в толщу стенки боба либо ползание по поверхности).

В дальнейшем австралийская группа применила к популяции гибридов второго поколения QTL-анализ – процедуру, направленную на выявление локусов с количественным эффектом (QTL) на основе сцепления этого эффекта с определенными районами генетической карты, – и обнаружила гораздо более сложную картину наследования (Arguamanesh et al., 2014). Три главных и пять второстепенных QTL были ответственны за 95 % изменчивости по устойчивости за счет гибели личинок в семядолях, три главных (из них два сцепленных) и два второстепенных QTL в сумме отвечали за 70 % изменчивости по устойчивости за счет неспособности личинок проникнуть в семена через их оболочку и всего один QTL объяснял 8,8 % изменчивости по устойчивости за счет неспособности личинок проникнуть внутрь боба. Таким образом, подтвердились полученные ранее данные (Vupne et al., 2008) о наследуемости устойчивости на уровне проникновения личинок в семена. Обнаруженные QTL не являлись таковыми в строгом смысле, так как на их проявление оказывали значительное влияние доминантность и генное взаимодействие.

Каллусообразные неопластические разрастания на стенках бобов в ответ на яйцекладку гороховой зерновки определяются присутствием доминантного гена *Np* (*Neoplastic pod*) (Berdnikov et al., 1992). Этот ген был хорошо известен и ранее благодаря своему вредному побочному эффекту – спонтанно вызывать подобные, иногда очень интенсивные, разрастания на стенках бобов в условиях теплицы (т. е. при отсутствии ультрафиолетового излучения и при высокой влажности). В указанной работе было выяснено, что такие разрастания индуцируются в открытом грунте и являются адаптивными в качестве фактора устойчивости к зерновке. В дальнейшем физиология данного явления была исследована группой американских исследователей во главе с Робертом Доссом (Doss et al., 2000; Oliver et al., 2000, 2002; Cooper et al., 2005; Doss, 2005), которые даже выделили специальный класс органических веществ – брухины (Schultz et al., 2001), – содержащиеся в секрете самки жука и активирующие неоплазию (конечно, не следует думать, что в этом состоит их «биологическая роль», так как неоплазия для жука нежелательна). Следует, однако, заметить, что (по неопубликованным данным коллектива В.А. Бердникова) в открытом грунте неоплазия индуцируется самыми разными органическими веществами, поэтому специально называть один из их классов «брухинами», по-видимому, было не вполне целесообразно.

У *P. fulvum* был обнаружен ген с доминантным эффектом, обеспечивающий устойчивость к мучнистой росе, вызываемой *Erysiphe pisi*, неаллельный двум генам с подобным эффектом, известным у посевного гороха (Fondevilla et al., 2010). В потомстве второго поколения от скрещивания другого образца *P. fulvum* и культурного гороха та же группа исследователей локализовала один локус с количественным эффектом (QTL), отвечающий за 63 % изменчивости по частичной устойчивости к

ржавчине (Barilli et al., 2010), что представляет собой ситуацию, удобную для интрогрессии этого признака в культурный горох.

Образец P665, принадлежащий к *P. sativum* subsp. *elatius*, был облюбован группой исследователей, преимущественно испанских, как источник устойчивости к целому ряду паразитов, таких как заразиха, аскохитоз и стеблевая гниль. Анализ третьего поколения гибридов от его скрещивания с культурным горохом выявил два локуса с количественным эффектом (QTL), отвечающих за устойчивость к заразихе (Valderrama et al., 2004). Генетический анализ с использованием серии рекомбинантных инбредных линий обнаружил такое же количество QTL устойчивости к стеблевой гнили (Fondevilla et al., 2012). Первоначальный анализ той же популяции показал присутствие 7 QTL, ответственных за устойчивость к аскохитозу (Fondevilla et al., 2007a), а более тонкий анализ с привлечением дополнительных SNP довел число таких QTL до 16, причем влияющих на различные аспекты устойчивости, а также позволил предложить гены-кандидаты на роль некоторых из них (Fondevilla et al., 2008, 2011; Carillo et al., 2014).

Совместимость разных форм гороха и штаммов *Rhizobium leguminosarum* стала объектом множества работ по совместному генетическому анализу обоих симбионтов; генетическая и молекулярная природа взаимодействия растительного и бактериального симбионтов детально исследована (Борисов и др., 2011). Отметим, что в эти работы вовлекались европейские сорта, полученные на их основе мутанты и «примитивные» (местные культурные формы, не подвергавшиеся сознательной селекции), в частности, из Ирана, Афганистана, Тибета и Индии (Kleen, LaRue, 1984), но не дикие формы гороха. Особым вниманием пользовался так называемый «культурвар Афганистан» (образец J11357), введенный в научный оборот Т.А. Ли (Lie, 1971, 1978, 1984) и неспособный к нодуляции при инокуляции европейскими штаммами ризобия.

Лишь одна работа, связанная с перспективами использования генетического разнообразия диких форм гороха в селекции, продвинулась дальше констатации наличия полезных свойств и изучения их наследования. Аргуаманеш с соавт. (Arguamanesh et al., 2012) выбрали устойчивый к гороховой зерновке гибрид пятого поколения от скрещивания культурного гороха с *Pisum fulvum*, провели одно поколение беккроста на культурный горох, после чего в течение 5 поколений вели отбор на устойчивость, в результате получили 5 устойчивых линий. Таким образом, была осуществлена трансгрессия устойчивости от *P. fulvum* к *P. sativum*. Данные пять линий представляют перспективный материал для селекции. Отметим лишь тот факт, что они пока несут слишком большую долю генома от *P. fulvum* (теоретически ожидается одна четвертая часть).

Объективные и субъективные препятствия на пути использования диких форм гороха в селекции

Вышеприведенные работы рассмотрены здесь детально по той причине, что первые шаги к использованию диких форм гороха в селекции, по сути, ими и исчерпываются.

Таким образом, до недавнего времени ресурс природного генетического разнообразия гороха оставался, во-первых, невостребованным. Во-вторых, он до сих пор очень мало изучен. В мировых коллекциях имеется всего около 100 образцов дикого гороха, которые в ходе обмена семенным фондом многократно дублировались, приобретая все новые обозначения, так что один и тот же образец может присутствовать в одной и той же коллекции под разными номерами и даже возвращаться в исходную коллекцию, приобретая при этом новый номер. Более того, в ходе репродукции этот материал подвергался риску спонтанного скрещивания с другими генотипами, следы чего мы наблюдали в образцах семян, полученных из разных коллекций (например из Всероссийского института растениеводства и коллекции Вейсбуллхольм, Ландскрона, Швеция). Образцы старых сборов были часто лишены достаточной информации об их происхождении, имели лишь общую привязку, такую как, например, «Палестина» или «Абиссиния».

Лишь в последнее время появился закономерный интерес к максимально широкому сбору природного материала как дикого гороха, так и диких сородичей иных культур (Maxted, Kell, 2009; Maxted et al., 2012). Весьма симптоматично название обзорной статьи 20 авторов, известных в данной области ученых со всего мира, опубликованной в 2011 г. в журнале «BioScience»: «Дикие сородичи культурных растений недооценены, недоиспользованы и под угрозой?» (Ford-Lloyd et al., 2011. P. 559) (Пер. автора). В связи с таким положением дел международная организация «Global Crop Diversity Trust» провела ряд экспертных совещаний по диким родственникам каждой из основных культур. Совещание по диким родственникам гороха состоялось 30 сентября–1 октября 2014 г. в Центре Джона Иннеса, в Великобритании, в котором также принял участие и автор данной работы. К сожалению, резюмирующей статьи по результатам данного совещания пока не появилось.

Следует сказать, что использование природного разнообразия дикого гороха в селекции затруднено репродуктивными барьерами, существующими не только между разными видами гороха, но и внутри вида посевной горох (*P. sativum*). Под репродуктивными барьерами мы в данном случае понимаем частичную или полную стерильность гибридов первого поколения в отношении семян и/или пыльцы, а в некоторых случаях и невозможность получения таких гибридов (Kosterin, Bogdanova, 2014). Имеются данные о том, что репродуктивные барьеры между посевным горохом и двумя другими видами рода, *Pisum fulvum*, *P. abyssinicum*, как минимум частично связаны с реципрокными транслокациями (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Conicella, Errico, 1990; Errico et al., 1991), которые вызывают нарушения в мейозе, оказавшись в гетерозиготе у гибридов, т.е. влияют на фертильность гибридов первого поколения. Кариологический анализ мейоза гибридов первого поколения позволил предположить, что как минимум одна транслокация участвует и в создании репродуктивных барьеров, и внутри вида Посевной горох (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Однако роль транслокаций в создании репродуктивной изоляции у гороха сильно преувеличена, поскольку полустериль-

ность пыльцы и даже нарушения спаривания бивалентов могут вызываться конфликтом ядра и пластид (Богданова, Галиева, 2009; Bogdanova et al., 2012, 2014), а не только быть фенотипическими проявлениями гетерозиготности по реципрокным транслокациям (Lamm, 1951), каковой они обычно и приписываются.

Еще одной, довольно неожиданной, проблемой в использовании дикорастущих форм гороха являются недостаточные знания об их разнообразии у тех, кто пытается его использовать, и прежде всего о таксономии рода Горох и проблемах в этой области. Как правило, таксономия воспринимается генетиками и селекционерами не критично, причем они склонны ее переоценивать в том отношении, что неявно предполагают таксоны достаточно гомогенными внутри и в то же время четко отграниченными друг от друга так, что любой классифицированный каким-либо образом образец неплохо представляет весь таксон (что весьма далеко от действительности). Как следствие, ученые часто не учитывают географическое происхождение диких образцов, с которыми работают. Такой подход был назван О.Э. Костериным и В.С. Богдановой «таксономической ловушкой» (Kosterin, Bogdanova, 2014).

Так, в работах испанской группы, детально исследовавшей генетику устойчивости к разным патогенам и вредителям образца P665 (это, кстати, внутреннее обозначение, принятое данной группой) (Valderrama et al., 2004; Fondevilla et al., 2007a, 2008, 2012; Carillo et al., 2014), нигде не приводится происхождение этого образца. Лишь в работе Fondevilla с соавт. (2005) содержалось указание, что он получен из коллекции ICARDA. Как выяснилось, образец был исходно определен в указанной коллекции как *P. fulvum*, правильно переопределен процитированными выше авторами как *Pisum sativum* subsp. *syriacum* (в принятой здесь системе Макстеда и Амброуза соответствует таксону *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio*), но его происхождение далее ими не выяснялось, поскольку авторы полагали, что он является «типичным представителем» данного подвида (Личн. сообщение Д. Рубиалиса). В действительности этот таксон весьма гетерогенен в любом из принимаемых его объемов. Не без труда, с привлечением неопубликованных каталогов, удалось выяснить, что имеется в виду образец IG52439, собранный 5 мая 1986 г. в Сирии, провинции Дамаск, в точке с широтой 33,62111", долготой 36,03028" в.д. и высотой 1110 м над у. м. (согласно базе данных ICARDA), близ озера Зарзар в горах Шир Мансур; других коллекциях он имеет обозначения как 868313, 142-2810 и WG 17093.

Образец PI269818 удостоился чести быть вторым генотипом, для которого была создана библиотека ВАС-клонов. Однако ни в работе, посвященной созданию этой библиотеки (Coyne et al., 2007), ни в работах, на которые в ней приведены ссылки, его происхождение и таксономическая принадлежность не упомянуты. Лишь в работах Р. Проввиденти с соавт. (Provvidenti, Alconero, 1988; Provvidenti, Hampton, 1993) имеется указание, что он происходит «из СССР».

Удручающим примером путаницы, возникшей вследствие пренебрежения генетиками знаниями о своем материале, является тот факт, что «культivar Афгани-

стан» – примитивный горох из Афганистана, введенный в научный оборот Т.А. Ли (Lie, 1978, 1984), в дальнейшем упоминался одновременно и как «cv. Afghanistan» (сорт «Афганистан», J11357), и как «wild pea variety Afghanistan» (разновидность дикого гороха «Афганистан») (Geurts et al., 1997). Янг и Мэтьюс специально исследовали этот вопрос (Yang, Matthews, 1982). Они обнаружили, что линии из Афганистана, устойчивые к европейскому штамму ризобия (симбиотической азотфиксирующей бактерии), фенотипически очень сходны между собой: они имеют мелкие цветки с грязноокрашенным за счет флавоноидной пигментации венчиком, мелкие семена мраморной окраски, не имеют антоциановой окраски на вегетативных органах и проявляют устойчивость к аскохитозу (Янг и Мэтьюс назвали их облик «диким» в переносном смысле), в то время как афганские образцы, чувствительные к европейскому ризобию, проявляли гораздо большее разнообразие. Фенотип группы устойчивых образцов лучше всего соответствует выделенному Л.И. Говоровым подвиду *P. sativum* subsp. *asiaticum* Govogov (Говоров, 1928), однако в этот подвид были включены большинство весьма разнообразных примитивных форм культурного гороха из Азии и даже из Северной Африки (Говоров, 1937), так что в целом азиатский подвид вряд ли следует рассматривать как реально существующий таксон (Maxted, Ambrose, 2001). Янг и Мэтьюс усмотрели фенотипическое сходство устойчивых афганских образцов с образцом J1241 из Иерусалима, определенным как «*Pisum humile*» и также устойчивым к европейскому штамму. Тем не менее все устойчивые афганские образцы представляют собой местную традиционную культурную форму – они происходят с рынков по всей территории Афганистана, а их бобы не раскрываются (Yang, Matthews, 1982). Дикий горох в Афганистане никем никогда не регистрировался, а исходя из биогеографических закономерностей, он вряд ли там присутствует. Впрочем, целенаправленные поиски дикого гороха во флоре Паропамиза (северо-западный Афганистан) были бы весьма желательны.

Все вышеприведенные обстоятельства подчеркивают актуальность всестороннего и детального, с учетом всей имеющейся информации, прежде всего географической и генетической, исследования диких представителей рода *Pisum* и получения адекватной картины как его современной структуры, так и истории его дивергенции и расселения. Наведение порядка в этой области выглядит даже не столько своевременным, сколько запоздалым, поскольку игнорирование географического происхождения и путаница в таксономической принадлежности материала давно стали дурными традициями. Не следует сбрасывать со счетов и происходящее в наши дни исчезновение естественных местообитаний дикого гороха в связи с трансформацией и деградацией растительных сообществ вследствие прямого (сельскохозяйственная деятельность, застройка) и непрямого (глобальное изменение климата) воздействия человека. Темпы этого исчезновения неизвестны и скорее всего высоки. В изучении и сохранении дикого гороха в нашем быстроменяющемся мире нельзя терять времени.

Благодарности

Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН, интеграционным проектом ИЦиГ СО РАН и грантом РФФИ 13-04-00516а «Генетический анализ роли генов ядерно-цитоплазматической несовместимости в формировании репродуктивной изоляции в роде Горох (*Pisum* L.). Автор благодарен рецензенту за ценные замечания.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Богданова В.С., Галиева Э.Р. Нарушения мейоза как проявление ядерно-цитоплазматической несовместимости при скрещивании подвидов посевного гороха. *Генетика*. 2009;45(5):711-716.
- Борисов А.Ю., Штарк О.Ю., Жуков В.А., Наумкина Т.С., Пинаев А.Г., Ахметова Г.А., Ворошилова В.А., Овчинникова Е.С., Рычагова Т.С., Цыганов В.Е., Жернаков А.И., Кузнецова Е.В., Грипина О.А., Сулима А.С., Федорина Я.В., Чеботарь В.К., Бисселинг Т., Лемансо Ф., Джанианизи-Пирсон В., Ратэ П., Санжуан Х., Стоугаард Й., Берг Г., Макфи К., Эллис Н., Тихонович И.А. **Взаимодействие бобовых с полезными почвенными организмами: от генов растений к сортам. С.-х. биология**. 2011;3:41-47.
- Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений. Тр. по прикл. ботан. и селекции. 1926;16(2):248.
- Вавилов Н.И. Мировые центры сортовых богатств (генов) культурных растений. Изв. ГИОА. 1927;5(5):339-351.
- Вавилов Н.И. Проблема происхождения культурных растений в современном понимании. Достижения и перспективы в области прикладной ботаники, генетики и селекции. Л.: Изд-во ВИПБиНК и ГИОА, 1929:11-22.
- Вилкова Н.А., Колесниченко Л.И., Шапиро И.Д. Методические рекомендации по выявлению устойчивости сортов гороха к гороховой зерновке. Л.: Всесоюз. ин-т растениеводства ВАСХНИЛ, 1977.
- Говоров Л.И. Горох Афганистана. Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1928;19(2):497-522.
- Говоров Л.И. Горох. Культурная флора СССР. Т. IV. **Зерновые бобовые**. М.; Л.: Гос. изд-во совхоз. и колх. лит-ры, 1937:229-336.
- Гончаров Н.П. Николай Иванович Вавилов. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2014.
- Гончаров Н.П., Глушков С.А., Шумный В.К. Доместикация злаков Старого Света: поиск новых подходов для решения старой проблемы. *Журн. общ. биологии*. 2007;68(2):126-148.
- Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи, 3-е изд. Л.: Колос, 1971.
- Макашева Р.Х. Культурная флора СССР. Л.: Колос, 1979. Т. IV.
- Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли. Л.: Наука, 1978.
- Шлыков Г.Р. Интродукция растений. М.; Л.: Сельхозгиз, 1936.
- Шлыков Г.Р. Интродукция растений и генетика. Спорные вопросы генетики и селекции. М.: ВАСХНИЛ, 1937:218-230.
- Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher A. Agricultural origins: centres and non-centres; a Near Eastern reappraisal. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 2010;29: 317-328.
- Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher A. Origin of Near Eastern plant domestication: homage to Claude Levi-Strauss and 'La Pensée e Sauvage'. *Genet. Res. Crop. Evol.* 2011;58:175-179.
- Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher A. Plant domestication and crop evolution in the Near East: on events and process. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 2012;31:241-257.
- Abbo S., Lev-Yadun S., Heun M., Gopher A. On the 'lost crops' of the neolithic Near East. *J. Exp. Bot.* 2013;64:815-822.
- Ali S.M., Sharma B., Ambrose M.J. Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*. 1994;73:115-126.

- Allaby R.G., Fuller D.Q., Brown T.A. The genetic expectation of the protracted model of the origin of domesticated crops. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008;105:13982-13986.
- Ambrose M.J., Ellis T.H.N. Ballistic seed dispersal and associated seed shadow in wild *Pisum* germplasm. *Pisum Genetics.* 2008;40:5-10.
- Aryamanesh N., Byrne O., Hardie D.C., Khan T., Siddique K.H.M., Yan G. Large-scale density-based screening for pea weevil resistance in advanced backcross lines derived from cultivated field pea (*Pisum sativum*) and *Pisum fulvum*. *Crop Pasture Sci.* 2012;63: 612-618.
- Aryamanesh N., Zeng Y., Byrne O., Hardie D.C., Al-Subhi A.M., Khan T., Siddique K.H.M., Yan G. Identification of genome regions controlling cotyledon, pod wall/seed coat and pod wall resistance to pea weevil through QTL mapping. *Theor. Appl. Genet.* 2014; 127:489-497.
- Asouti E., Fuller D.Q. From foraging to farming in the southern Levant: the development of the Epipaleolithic and Pre-pottery Neolithic plant managing strategies. *Veg. History Archaeobot.* 2012;21:149-162.
- Baranger A.G., Aubert G., Arnau G., Lainé A.L., Deniot G., Potier J., Weinachter C., Lejeune-Hénaut I., Lallemand J., Burstin J. Genetic diversity within *Pisum sativum* using protein - and PCR based markers. *Theor. Appl. Genet.* 2004;108:1309-1321.
- Barilli E., Satovic Z., Rubiales D., Torres A.M. Mapping of quantitative trait loci controlling partial resistance against rust incited by *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in a *Pisum fulvum* L. intraspecific cross. *Euphytica.* 2010;175:151-159.
- Barilli E., Sillero J.C., Moral A., Rubiales D. Characterization of resistance response of pea (*Pisum* spp.) against rust (*Uromyces pisi*). *Plant Breeding.* 2009;128:665-670.
- Bastianelli D., Grosjean F., Peyronnet C., Duparque M., Regnier J.M. Feeding value of pea (*Pisum sativum* L.). Chemical composition of different categories of pea. *Anim. Sci.* 1998;67:609-619.
- Ben-Ze'ev N., Zohary D. Species relationship in the genus *Pisum* L. *Israel J. Botany.* 1973;22:73-91.
- Berdnikov V.A., Trusov Y.A., Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Rozov S.M., Nedel'kina S.V., Nikulina Y.N. The neoplastic pod gene (*Np*) may be a factor of resistance to the pest *Bruchus pisorum* L. *Pisum Genetics.* 1992;24:37-39.
- Bogdanova V.S., Galieva E.R., Yadrikhinskiy A.K., Kosterin O.E. Inheritance and genetic mapping of two nuclear genes involved in nuclear-cytoplasmic incompatibility in peas (*Pisum sativum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2012;124:1503-1512.
- Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Yadrikhinskiy A.K. Wild peas vary in their cross-compatibility with cultivated pea (*Pisum sativum* subsp. *sativum* L.) depending on alleles of a nuclear-cytoplasmic incompatibility locus. *Theor. Appl. Genet.* 2014;127:1163-1172.
- Brown T.A., Jones M.K., Powell W., Allaby R.G. The complex origins of domesticated crops in the Fertile Crescent. *Trends in Ecology and Evolution.* 2009;24:103-109.
- Byrne O.M., Hardie D.C., Khan T.N., Yan G. Genetic analysis of pod and seed resistance to pea weevil in a *Pisum sativum* × *P. fulvum* interspecific cross. *Austr. J. Agric. Res.* 2008;59:854-862.
- Carrillo E., Rubiales D., Pérez-de-Luque A., Fondevilla S. Characterization of mechanisms of resistance against *Didymella pinodes* in *Pisum* spp. *Eur. J. Plant Pathol.* 2013;135:761-769.
- Carrillo E., Satovic Z., Aubert G., Boucherot K., Rubiales D., Fondevilla S. Identification of quantitative trait loci and candidate genes for specific cellular resistance responses against *Didymella pinodes* in pea. *Plant Cell Rep.* 2014;33:1133-1345.
- Clement S.L., Hardie D.C., Elbertson L.R. Variation among accessions of *Pisum fulvum* for resistance to pea weevil. *Crop Sci.* 2002;42: 2167-2173.
- Clement S.L., McPhee K.E., Elbertson L.R., Evans M.A. Pea weevil, *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae), resistance in *Pisum sativum* × *Pisum fulvum* interspecific crosses. *Plant Breeding.* 2009; 128:478-485.
- Conicella C., Errico A. Karyotype variations in *Pisum sativum* ect. *abysinicum*. *Caryologia.* 1990;43:87-97.
- Cooper L.D., Doss R.P., Price R., Peterson K., Oliver J.E. Application of Bruchin B to pea pods results in the up-regulation of CYP93C18, a putative isoflavone synthase gene, and an increase in the level of pisatin, an isoflavone phytoalexin. *J. Experim. Botany.* 2005;56: 1229-1237.
- Coyne C.J., McGee R.J., Redden R.J., Ambrose M.J., Furman B.J., Miles C.A. Genetic adjustment to changing climates: pea. (Eds S.S. Yadav, R.J. Redden, J.L. Hatfield, H. Lotze-Campen, A.E. Hall). *Crop Adaptation to Climate Change*, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2011: 238-250.
- Coyne C.J., McClendon M.T., Walling J.G., Timmerman-Vaughan G.M., Murray S., Meksem K., Lightfoot D.A., Shultz, J.L., Keller K.E., Martin R.R., Inglis D.A., Rajesh P.N., McPhee K.E., Weeden N.F., Grusak N.A., Li C.-M., Storie E.W. Construction and characterization of two bacterial artificial chromosome libraries of pea (*Pisum sativum* L.) for the isolation of economically important genes. *Genome.* 2007;50:871-875.
- Davis H. Materials for a flora of Turkey. XIX. Leguminosae: Vicieae. *Notes Roy. Bot. Garden Edinburgh.* 1969;29:311-320.
- Davis H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. V. 3. Edinburgh, 1970.
- Domoney C., Casey R., Turner L., Ellis N. *Pisum* lipoxygenase genes. *Theor. Appl. Genet.* 1991;81:800-805.
- Doss R.P. Treatment of pea pods with Bruchin B results in up-regulation of a gene similar to MtN19. *Plant Physiol. Biochemistry.* 2005;43:225-231.
- Doss R.P., Oliver J.E., Proebsting W.M., Potter S.W., Kuy S., Clement S.L., Williamson T., Carney J.R., DeVilbiss E.D. Bruchins: insect-derived plant regulators that stimulate neoplasm formation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2000;97:6218-6223.
- Ellis T.H.N., Poyser S.J., Knox M.R., Vershinin A.V., Ambrose M.J. Polymorphism of insertion sites of *Ty1-copia* class retrotransposons and its use for linkage and diversity analysis in pea. *Mol. General Genet.* 1998;260:9-19.
- Errico A., Conicella C., Venora G. Karyotype studies on *Pisum fulvum* and *Pisum sativum* using a chromosome image analysis system. *Genome.* 1991;34:105-108.
- Fondevilla S., Almeida N.F., Satovic Z., Rubiales D., Patto M.C.V., Cubero J.I., Torres A.M. Identification of common genomic regions controlling resistance to *Mycosphaerella pinodes*, earliness and architectural traits in different pea genetic backgrounds. *Euphytica.* 2011;182:43-52.
- Fondevilla S., Ávila C.M., Cubero J.I., Rubiales D. Response to *Mycosphaerella pinodes* in a germplasm collection of *Pisum* spp. *Plant Breeding.* 2005;124:313-315.
- Fondevilla S., Cubero J.I., Rubiales D. Inheritance of resistance to *Mycosphaerella pinodes* in two wild accessions of *Pisum*. (Eds B. Tivoli, A. Baranger, F.J. Muehlbauer, B.M. Cooke). *Ascochyta blights of grain legumes.* Springer, Netherlands, 2007a:53-58.
- Fondevilla S., Cubero J.I., Rubiales D. Confirmation that the *Er3* gene, conferring resistance to *Erysiphe pisi* in pea, is a different gene from *er1* and *er2* genes. *Plant Breeding.* 2010;130:281-282.
- Fondevilla S., Martín-Sanz A., Satovic Z., Fernández-Romero M.D., Rubiales D., Caminero C. Identification of quantitative trait loci involved in resistance to *Pseudomonas syringae* pv *syringae* in pea (*Pisum sativum* L.). *Euphytica.* 2012;186:805-812.
- Fondevilla S., Satovic Z., Rubiales D., Moreno M.T., Torres A.M. Mapping of quantitative trait loci for resistance to *Mycosphaerella pinodes* in *Pisum sativum* subsp. *syriacum*. *Mol. Breed.* 2008;21: 439-454.
- Fondevilla S., Torres A.M., Moreno M.T., Rubiales D. Identification of a New Gene for Resistance to Powdery Mildew in *Pisum fulvum*, a Wild Relative of Pea. *Breeding Science.* 2007b;57:181-184.
- Ford-Lloyd B.V., Schmidt M., Armstrong S.J., Barazani O., Engels J., Hadas R., Hammer K., Kell S.P., Kang D., Khoshbakht K., Li Y., Long C., Lu B.-R., Ma K., Nguyen V.T., Qiu L., Ge S., Wei W., Zhang Z., Maxted N. Crop wild relatives – undervalued, underutilized and under threat? *BioScience.* 2011;61:559-565.

- Fuller D.Q. Contrasting pattern of crop domestication and domestication rates: recent archaeological insights from the Old World. *Ann. Bot.* 2007;100:903-924.
- Fuller D.Q., Willcox G., Allaby R.G. Cultivation and domestication had multiple origins: arguments against the core area hypothesis for the origins of agriculture in the Near East. *World Archaeol.* 2011;43:628-658.
- Fuller D.Q., Willcox G., Allaby R.G. Early agricultural pathways: moving outside the 'core area' hypothesis in Southwest Asia. *J. Exp. Bot.* 2012;63:617-633.
- Geurts R., Heidstra R., Hadri A.E., Downie J.A., Franssen H., van Kammen A.B., Bisseling T. *Sym2* of pea is involved in a nodulation factor-perception mechanism that controls the infection process in the epidermis. *Plant Physiol.* 1997;115:351-359.
- Glémin S., Bataillon T. A comparative view of the evolution of grasses under domestication. *New Phytol.* 2012;183:273-290.
- Gopher A., Abbo S., Lev-Yadun S. The 'when', the 'where' and the 'why' of the Neolithic revolution in the Levant. *Documenta Praehistorica.* 2001;27:49-62.
- Hammer K. The domestication syndrome. *Kulturpflanze.* 1984;32:11-34.
- Hance S.T., Grey W., Weeden N.F. Identification of tolerance to *Fusarium solani* in *Pisum sativum* ssp. *elatius*. *Pisum Genetics.* 2004;36:9-13.
- Harlan J.R. Agricultural origin: centres and noncentres. *Science.* 1971;174:468-474.
- Hatfield J.L. Changing climate in North America: implications for crops. (Eds S.S. Yadav, R.J. Redden, J.L. Hatfield, H. Lotze-Campen, A.E. Hall). *Crop Adaptation to Climate Change.* Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2011:57-65.
- Heng L., Vincken J.P., van Koningsveld G., Legger A., Gruppen H., van Boekel T., Roozen J., Voragen F. Bitterness of saponins and their content in dry peas. *J. Sci. Food and Agriculture.* 2006;86:1225-1231.
- Hoey B.K., Crowe K.R., Jones V.M., Polans N.O. A phylogenetic analysis of *Pisum* based on morphological characters, and allozyme and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 1996;92:92-100.
- Holloway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 2007;58:1086-1099.
- Jing R., Johnson R., Seres A., Kiss G., Ambrose M.J., Knox M.R., Ellis T.H.N., Flavell A.J. Gene-based sequence diversity analysis of field pea (*Pisum*). *Genetics.* 2007;177:2263-2275.
- Jing R., Vershinin A., Grzebotka J., Shaw P., Smýkal P., Marshall D., Ambrose M.J., Ellis T.H.N., Flavell A.J. The genetic diversity and evolution of field pea (*Pisum*) studied by high throughput retrotransposon based insertion polymorphism (RBIP) marker analysis. *BMC Evolutionary Biol.* 2010;10. Art. 44.
- Kneen B.E., LaRue T.A. Peas (*Pisum sativum* L.) with strain specificity to *Rhizobium leguminosarum*. *Heredity.* 1984;52:383-389.
- Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Relationship of wild and cultivated forms of *Pisum* L. as inferred from an analysis of three markers, of the plastid, mitochondrial and nuclear genomes. *Genet. Res. Crop Evol.* 2008;55:735-755.
- Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Reciprocal compatibility within the genus *Pisum* L. as studied in F1 hybrids: 1. Crosses involving *P. sativum* L. subsp. *sativum*. *Genet. Res. Crop Evol.* 2014. DOI: 10.1007/s10722-014-0189z (E-pub ahead of print)
- Kosterin O.E., Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Ambrose M. New data on three molecular markers from different cellular genomes in Mediterranean accessions reveal new insights into phylogeography of *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (Beib.) Schmahl. *Genet. Res. Crop Evol.* 2010;57:733-739.
- Ladizinsky G. Seed dispersal in relation to domestication of Middle East legumes. *Economical Botany.* 1979;33:284-289.
- Lamm R. Cytogenetical studies on translocations in *Pisum*. *Hereditas.* 1951;37:356-372.
- Lev-Yadun S., Gopher A., Abbo S. The cradle of agriculture. *Science.* 2000;288:1602-1603.
- Lie T.A. Symbiotic nitrogen fixation under stress conditions. *Plant and Soil.* Special vol. 1971:117-127.
- Lie T.A. Symbiotic specialization in pea plants: the requirement of specific *Rhizobium* strains for peas from Afghanistan. *Ann. Appl. Biol.* 1978;88:462-465.
- Lie T.A. Gene centres, a source for genetic variants in symbiotic nitrogen fixation: Host induced ineffectivity in *Pisum sativum* ecotype *fulvum*. *Plant and Soil.* 1981;61:125-134.
- Lie T.A. Host genes in *Pisum sativum* conferring resistance to European *Rhizobium leguminosarum* strains. *Plant and Soil.* 1984;82:415-425.
- Lie T.A., Gökten D., Engin M., Pijnenborg J., Anlarsal E. Co-evolution of the legume-*Rhizobium* association. *Plant and Soil.* 1987;100:171-181.
- Lobell D.B., Field C.B. Global scale climate-crop yield relationships and the impacts of recent warming. *Environmental Res. Letters.* 2007;2. Art. 014002.
- Lu J., Knox M.R., Ambrose M.J., Brown J.K.M., Ellis T.H.N. Comparative analysis of genetic diversity in pea assessed by RFLP- and PCR-based methods. *Theor. Appl. Genet.* 1996;93:1103-1111.
- Marx G.A. New linkage relations for chromosome III of *Pisum*. *Pisum Newslett.* 1971;3:18-19.
- Maxted N., Ambrose M. Peas (*Pisum* L.). (Eds N. Maxted, S.J. Bennett). *Plant Genetic Res. of Legumes in the Mediterranean.* Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture 39, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht. 2001:181-190.
- Maxted N., Kell S.P. Establishment of a global network for the *in situ* conservation of crop wild relatives: status and needs. *FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture.* Rome, 2009.
- Maxted N., Kell S., Ford-Lloyd B., Dulloo E., Toledo Á. Toward the systematic conservation of global crop wild relative diversity. *Crop Sci.* 2012;52:774-785.
- McPhee K.E., Tullu A., Kraft J.M., Muehlbauer F.J. Resistance to *Fusarium* wilt race 2 in the *Pisum* core collection. *J. Amer. Soc. Horticultural Sci.* 1999;124:28-31.
- Murfet I.C., Reid J.B. Developmental mutants. (Eds R. Casey, D.R. Davies). *Peas: genetics, molecular biology and biotechnology.* CAB International, Wallingford, UK, 1993:165-216.
- North H., Casey R., Domoney C. Inheritance and mapping of seed lipoxygenase peptides in *Pisum*. *Theor. Appl. Genet.* 1989;77:805-808.
- Oliver J.E., Doss R.P., Williamson R.T., Carney J.R., DeVilbiss E.D. Bruchins – mitogenic 3-(hydroxypropanoyl) esters of long chain diols from weevils of the Bruchidae. *Tetrahedron.* 2000;56:7633-7641.
- Oliver J.E., Doss R.P., Marquez B., DeVilbiss E.D. Bruchins, plant mitogens from weevils: structural requirements for activity. *J. Chemical Ecol.* 2002;28:2503-2513.
- Porter L.D., Hoheisel G., Coffman V.A. Resistance of peas to *Sclerotinia sclerotiorum* in the *Pisum* core collection. *Plant pathology.* 2009;58:52-60.
- Provvidenti R., Alconero R. Inheritance of resistance to a lentil strain of pea seed-borne mosaic virus in *Pisum sativum*. *J. Heredity.* 1988;79:45-47.
- Provvidenti R., Hampton R.O. Inheritance of resistance to white lupin mosaic virus in common pea. *HortScience.* 1993;28:836-837.
- Ramirez-Villegas J., Jarvis A., Läderach P. Empirical approaches for assessing impacts of climate change on agriculture: the EcoCrop model and a case study with grain sorghum. *Agricult. Forest Meteorol.* 2013;170:67-78.
- Redden R.J., Yadav S.S., Hatfield J.L., Prasanna B.M., Vasal S.K., LaFarge T. The potential of climate change adjustment in crops: a synthesis. *Changing climate in North America: implications for crops.* (Eds S.S. Yadav, R.J. Redden, J.L. Hatfield, H. Lotze-Campen, A.E. Hall). *Crop Adaptation to Climate Change.* Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2011:492-414.

- Schultz J.C., Schonrogge K., Lichtenstein C.P. Plant response to bruchins. *Trends Plant Sci.* 2001;6:406.
- Smýkal P., Aubert G., Burstin J., Coyne C.J., Ellis N.T., Flavell A.J., Ford R., Hýbl M., Macas I., Neumann P., McPhee K.E., Redden R.J., Rubiales D., Weller J.L., Warkentin T.D. Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy.* 2012;2:74-115.
- Smýkal P., Kenicer G., Flavell A.J., Corander J., Kosterin O., Redden R.J., Ford R., Coyne C.J., Maxted N., Ambrose M.J., Ellis N.T.H. Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization.* 2010; 2010:1-15.
- Tanno K., Wilcox G. How fast was wild wheat domesticated? *Science.* 2006;311:1886.
- Townsend C. Contribution to the flora of Iraq. V. Notes on Leguminosales. *Kew Bull. Roy. Bot. Gard.* 1968;2:435-458.
- Valderrama M.R., Roman B., Satovic Z., Rubiales D., Cubero J.I., Torres A.M. Locating quantitative trait loci associated with *Orobanche crenata* resistance in pea. *Weed Res.* 2004;44:323-328.
- Vershinin A.V., Allnut T.R., Knox M.R., Ambrose M.J. Transposable elements reveal the impact of introgression, rather than transposition, in *Pisum* diversity, evolution, and domestication. *Mol. Biol. Evol.* 2003;20:2067-2075.
- Vito M.D., Perrino P. Reaction of *Pisum* spp. to the attacks of *Heterodera goettingiana*. *Nematologia Mediterranea.* 1978;6:113-118.
- Waines J.G. The biosystematics and domestication of peas (*Pisum* L.). *Bul. of the Torrey Botanical Club.* 1975;102:385-395.
- Weeden N.F. Genetic changes accompanying the domestication of *Pisum sativum*: is there a common genetic basis to the 'domestication syndrome' for legumes? *Ann. Botany.* 2007;100:1017-1025.
- Weeden N.F., Brauner S.O.R.E.N., Przyborowski J.A. Genetic analysis of pod dehiscence in pea (*Pisum sativum* L.). *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002;7(2B):657-664.
- Weiss E., Kislev M.E., Hartmann A. Autonomous cultivation before domestication. *Science.* 2006;312:1608-1610.
- Wroth J.M. Possible role of wild genotypes of *Pisum* spp. to enhance ascochyta blight resistance in pea. *Austr. J. Expt. Agriculture.* 1998; 38:469-479.
- Yang J.P.W., Johnson W.B., Brewin N.J. A search for peas (*Pisum sativum* L.) showing strain specificity for symbiotic *Rhizobium leguminosarum*. *Heredity.* 1982;48:197-201.
- Yang J.P.W., Matthews P. A distinct class of peas (*Pisum sativum* L.) showing strain specificity for symbiotic *Rhizobium leguminosarum*. *Heredity.* 1982;48:203-210.
- Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Kosterin O.E. Phylogenetic reconstruction at the species and intraspecies levels in the genus *Pisum* (L.) (peas) using a histone H1 gene. *Gene.* 2012;504:192-202.
- Zaytseva O.O., Gunbin K.V., Mglinets A.V., Kosterin O.E. Divergence and population traits in evolution of the genus *Pisum* L. as reconstructed using genes of two histone H1 subtypes showing different phylogenetic resolution. *Gene.* 2015;556:235-244.
- Zohary M. Geobotanical foundations of the Middle East. I-II. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 1973.

Изучение линий *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides*, устойчивых к листовой и стеблевой ржавчинам

С.Н. Сибикеев¹, С.А. Воронина¹, Е.Д. Бадаева², А.Е. Дружин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

В настоящее время использование ряда интрогрессивных линий мягкой пшеницы, устойчивых к патогенам, в практической селекции сдерживается из-за отсутствия их цитогенетических характеристик, сведений о генетическом контроле к болезням и влиянии чужеродного генного материала на продуктивность и качество. Для решения этих задач были изучены интрогрессивные линии яровой мягкой пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока (*T. aestivum* × *Ae. speltoides*) Л195 и Л200, устойчивые к листовой и стеблевой ржавчинам, полученные от скрещивания пшенично-эгилопной линии 26^b-4 с сортами и линиями селекции НИИСХ Юго-Востока. Дифференциальное окрашивание по Гимза, флю-оресцентная *in situ* гибридизация (FISH) D-геномно-специфическими повторами pAs1 и Fat, анализ М1 мейоза и фитопатологические тесты показали, что гены устойчивости к ржавчинам, унаследованные от *Ae. speltoides*, находятся в участке хромосомы 2S, транслоцированном на хромосому 2D мягкой пшеницы, и высокоэффективны к обоим видам ржавчин. Изучение наследования генов устойчивости к листовой ржавчине, полученных от *Ae. speltoides*, выявило их тесное сцепление с гаметоцитными генами и отсутствие восприимчивых растений во втором и последующих поколениях. Исключением являлись лишь гибридные комбинации с линиями Л2032 и Л583, у которых в F₂ и последующих поколениях с низкой частотой выщеплялись восприимчивые растения. Оценка Л195 и Л200 на устойчивость к Ug99 + Lr24 (TTKST) и саратовской популяции возбудителя стеблевой ржавчины показала высокую устойчивость линий к этому патогену. Пребридинговые исследования линий Л195 и Л200 выявили их преимущество по продуктивности зерна по сравнению с сортом-реципиентом Л503, а также хорошие показатели качества муки и хлеба. По комплексу агрономических показателей и высокой устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам линии Л195 и Л200 являются хорошими донорами для практической селекции мягкой пшеницы.

Ключевые слова: пшенично-эгилопные линии; транслокация 2D/2S; высокая устойчивость к листовой и стеблевой ржавчинам; положительное влияние на продуктивность зерна и качество муки и хлеба.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Сибикеев С.Н., Воронина С.А., Бадаева Е.Д., Дружин А.Е. Изучение линий *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides*, устойчивых к листовой и стеблевой ржавчинам. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):165–170. DOI 10.18699/VJ15.020

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Sibikeev S.N., Voronina S.A., Badaeva E.D., Druzhin A.E. Study of resistance to leaf and stem rusts in *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides* lines. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):165–170. DOI 10.18699/VJ15.020

DOI 10.18699/VJ15.020

УДК 633.111.1:631.527

Поступила в редакцию 18.10.2014 г.

Принята к публикации 19.12.2014 г.

© АВТОРЫ, 2015

 e-mail: sibikeev_sergey@mail.ru

Study of resistance to leaf and stem rusts in *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides* lines

S.N. Sibikeev¹, S.A. Voronina¹, E.D. Badaeva², A.E. Druzhin¹

¹ Agricultural Research Institute for South-East Regions of Russia, Saratov, Russia

² Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Presently, the use of bread wheat introgression lines resistant to pathogens in practical breeding is hampered by the lack of their cytogenetic characteristics, data on the genetic control of disease resistance, and influence of alien genetic material on grain productivity and quality. For the solution of these problems, two wheat–*Aegilops speltoides* lines, L195 and L200, developed at ARISER and resistant to leaf and stem rusts were studied. These lines were produced by crossing of spring bread wheat cultivars to line L26^b-4. Cytogenetic analysis of the lines involved C-banding, meiotic analyses, and FISH with pAs1 and Fat. It allowed the rust resistance genes, efficient against both rust types, to be mapped to a 2D-2S translocation in both lines. Genetic analysis revealed tight linkage of leaf rust resistance genes from *Ae. speltoides* to gametocidal genes and absence of susceptible plants from the F₂ hybrids and subsequent generations. Exceptions were found only in hybrid combinations with lines L2032 and L583: occasional susceptible plants were noted in the F₂ and subsequent generations. Evaluation of lines L195 and L200 revealed high resistance to Ug99 + Lr24 (TTKST) and a local Saratov population of stem rust. The prebreeding studies of lines L195 and L200 showed their benefits in breeding for grain productivity in comparison with the recipient cultivar L503 and good bread-making quality. Due to the complex of agronomical traits and high resistance to leaf and stem rusts, lines L195 and L200 can be considered promising donors for commercial bread wheat breeding.

Key words: *Triticum aestivum*–*Aegilops speltoides* lines; 2D-2S translocation; high resistance to leaf and stem rusts; beneficial influence on grain yield and bread quality.

Дикие родственники мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. обладают многими генами, представляющими агрономический интерес, и могут являться ценными источниками устойчивости к болезням, насекомым и экстремальным факторам окружающей среды. Эти гены могут быть введены в геном мягкой пшеницы путем прямой межвидовой и межродовой гибридизации с последующим отбором дополненных или замещенных линий. Единичные фрагменты хромосом диких сородичей могут быть перенесены с помощью транслокаций. В первую очередь это касается видов, близкородственных мягкой пшенице, к которым относится *Aegilops speltoides* Tausch $2n = 14$, геном S. Этот вид принадлежит к вторичному генофонду мягкой пшеницы, т. е. к видам, один из геномов которых гомеологичен геномам *T. aestivum* (Shneider et al., 2008). В Каталоге генных символов пшеницы зарегистрировано 11 генов, перенесенных от *Ae. speltoides*, из них 6 генов устойчивости к листовой ржавчине (*Lr28*, *35*, *36*, *47*, *51*, *66*), 3 – к стеблевой ржавчине (*Sr32*, *39*, *47*) и два – к мучнистой росе (*Pm12*, *32*) (McIntosh et al., 2013). Кроме того, по данным Адониной с соавт. (2012), получена новая транслокация **5BS•5BL-5SL с эффективным геном устойчивости к листовой ржавчине *LrAsp5***. Таким образом, в пшенично-эгилопсные транслокации вовлечены 6 хромосом из 7: **1S, 2S, 3S, 5S, 6S и 7S. В целом вид** вызывает интерес селекционеров своим иммунитетом к ряду заболеваний и более высокой способностью к рекомбинации с хромосомами мягкой пшеницы, что обусловлено как близостью геномов S и B, так и наличием в геноме S генов супрессоров системы генов парной конъюгации и допускающих синхронизацию гомеологичных хромосом. Кроме того, анализ различных образцов *Ae. speltoides* из Турции, Ирака, Сирии, Израиля и Италии показал, что ряд образцов обладают достаточной жаро- и засухоустойчивостью, из них образец **ТА2348 из Израиля** – наиболее высокой (Pradhan et al., 2012). Однако у пшенично-эгилопсных линий так же, как и у других интрогрессий из видов вторичного генофонда, наблюдается сцепление генов, контролируемых полезными признаками с рядом агрономически отрицательных генов, в том числе и с гаметоцидными генами, нарушающими жизнеспособность как мужских, так и женских гамет. В Каталоге генных символов пшеницы McIntosh с соавт. зарегистрировано 2 гаметоцидных гена от *Ae. speltoides* – *Gcl-B1a* и *Gcl-B1b* (McIntosh et al., 2013).

При оценке интрогрессивных линий мягкой пшеницы с участием *Ae. speltoides* необходимо проводить их комплексное изучение цитогенетическими, генетическими и фитопатологическими методами. Кроме того, обязательны пребридинговые исследования, позволяющие показать влияние чужеродного генетического материала на агрономически важные признаки, т. е. определять так называемую «цену» введения интрогрессивного генетического материала.

В настоящей работе проводился цитогенетический и генетический анализ интрогрессивных линий, сортов и гибридов мягкой пшеницы на устойчивость к листовой и стеблевой ржавчине с целью вовлечения устойчивых линий в селекционный процесс.

Материал и методы

Используемый материал включал перспективные пшенично-эгилопсные линии, устойчивые к листовой ржавчине: Л195 = Л505 // Л503 * 2 / Л26⁶-4 и Л200 = Л505 * 2 / Л503 // Л583 / Л26⁶-4, где Л503 и Л505 – сорта яровой мягкой пшеницы, содержащие транслокацию 7DS•7DL-7Ae#1L (транслокация, несущая ген *Lr19*) от *Agropyron elongatum* (McIntosh et al., 2013); линии яровой мягкой пшеницы Л583 = Л401 / C55 * 2 // Л503 и Л2032 = Л504 / Краснокутка 10 // Л504, где Л504 – белозерный сибс Л503, выделенный из расщепляющейся родительской линии девятого поколения, пшенично-эгилопсная линия Л26⁶-4 = АД (*T. dicoccum* / *Ae. speltoides*) * 5 // Саратовская 29 (разновидность лютеценс, среднеспелая, высокоустойчивая к возбудителю листовой ржавчины *Puccinia triticina* Eriks с типом реакции на патоген IT = 0). Эта линия была взята для дальнейшей гибридизации и исследований из набора пшенично-эгилопсных линий, любезно предоставленных И.Г. Одинцовой (ВИР, г. Санкт-Петербург).

Для цитогенетической характеристики интрогрессивных линий и гибридов F₁ применялись методы анализа мейоза по З.П. Паушевой (1988), дифференциальная окраска – по Гимза (Badaeva et al., 1994) и флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) на основе клонированных последовательностей ДНК: **Fat и pAs1b в соответствии с ранее опубликованной методикой (Badaeva et al., 2010).**

Оценка устойчивости растений к листовой ржавчине проводилась в поле при естественном заражении и в теплице при искусственном инокулировании патотипами, содержащими ген вирулентности *pp19*, собранными с сорта Л503. Основным методом генетических исследований являлся гибридологический анализ гибридов F₁, F₂. Схемы скрещиваний составлялись в зависимости от решаемых задач. Число генов устойчивости к листовой ржавчине, *Lr*-генов, определяли в F₂ по соотношению частот устойчивых и восприимчивых растений. Степень расхождения теоретических ожидаемых результатов и фактических данных оценивали по критерию соответствия χ^2 (Доспехов, 1985).

Оценку интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы селекции ГНУ НИИСХ Юго-Востока, среди которых были линии Л195 и Л200, на устойчивость к расе стеблевой ржавчины Ug99 + Lr24 (ТТКСТ) проводили в инфекционном питомнике KARI в Njoro, Кения. Материал испытывали в 2010 и 2012 гг. Линии высевались двухрядковыми деланками метровой длины, перпендикулярно которым высевались рядки из смеси восприимчивых линий с генами *Sr31* и *Sr24*. Оценку проводили дважды по модифицированной шкале Cobba и реакции хозяина на внедрение патогена (Roelfs et al., 1992): R = устойчивый – 1 балл; TR = единичные пустулы, некротичные пятна, устойчивый – 1 балл; MR = умеренно устойчивый – 2 балла; MS = умеренно восприимчивый – 2–3 балла; M = промежуточный между устойчивым и восприимчивым – 2–3 балла; MSS = от умеренно восприимчивого до восприимчивого – 4 балла; TS = единичные пустулы, восприимчивый тип – 3–4 балла; S = восприимчивый – 4 балла.

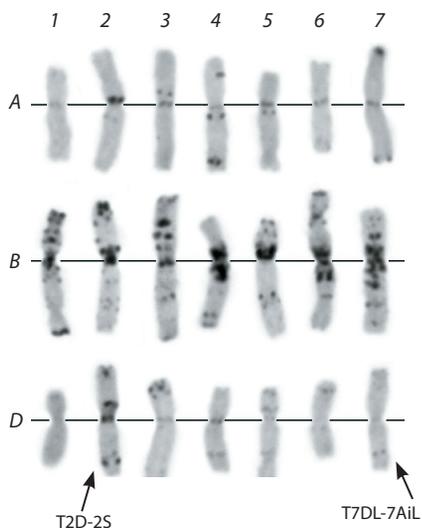


Рис. 1. Дифференциально окрашенный кариотип линии яровой мягкой пшеницы Л195. А, В, D – субгеномы мягкой пшеницы.

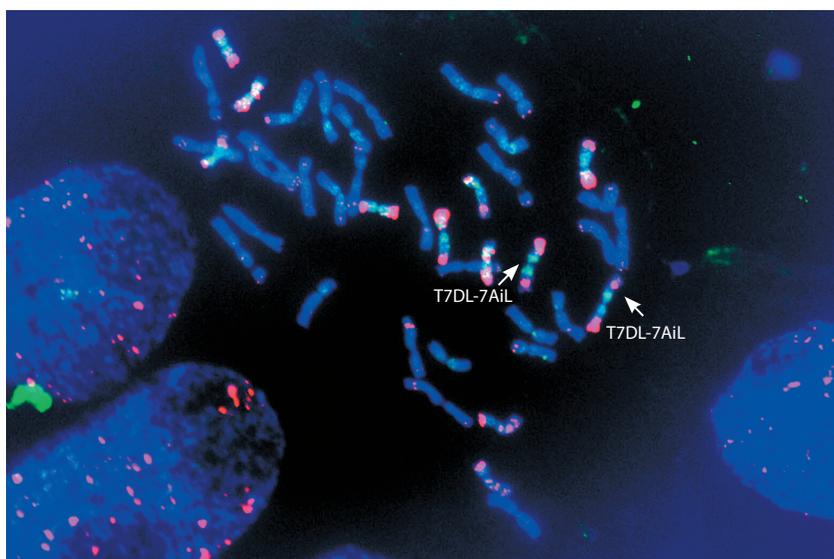


Рис. 2. Распределение D-геном-специфических повторов pAs1 и Fat на хромосомах линии Л195.

Пребридинговые исследования линий Л195 и Л200 по продуктивности зерна проводили в течение 9 лет – с 2004 по 2013 гг., исключением был 2010 г., когда из-за крайне жесткой засухи все растения независимо от генотипа погибли. В качестве контроля использовали сорт Л503. Также у этих линий были изучены физические свойства теста и хлебопекарные показатели с 2007 по 2013 гг. Полученные данные исследований подверглись статистическому анализу методами дисперсионного анализа и множественным сравнениям по тесту Дункана с использованием программ «AGROS-2.10».

Результаты и обсуждение

Цитогенетический анализ

Анализ кариотипа линии Л195 с помощью метода С-окрашивания хромосом показал, что линия имеет 42 хромосомы, которые все, кроме 2D и 7D, идентифицировались как пшеничные без изменений (рис. 1). В соответствии с рисунком С-окрашивания длинное плечо хромосомы 7D содержит фрагмент хромосомы 7Ae#1L, т.е. линия является носителем 7DS•7DL-7Ae#1L транслокации, что подтверждают результаты FISH с D-геном-специфическими повторами pAs1 и Fat (рис. 2). В отношении хромосомы 2D возникли

предположения, что либо она замещена хромосомой 2S *Ae. speltoides*, либо Л195 несет транслокацию 2D/2S (рис. 1). Для решения этого вопроса был получен гибрид F₁ Л195/Саратовская 29, у которого изучили конъюгацию хромосом в метафазе I. Было просмотрено 100 материнских клеток пыльцы (МКП). Средняя формула конъюгации хромосом составила 20,83II + 0,04III + 0,01IV + 0,12I. При этом в анафазе I редко обнаруживали мост и отстающие хромосомы от одной до двух, в телофазе I редко обнаруживали от одной до двух невключенных хромосом. Тетрады в основном были нормальными и крайне редко имели одинарные включения. Исходя из результатов анализа, можно сделать заключение, что линия Л195 несет транслокацию 2D/2S, так как в случае замещения 2D(2S) у гибрида F₁ Л195/Саратовская 29 в метафазе I должны были наблюдаться в большинстве МКП две унivalentные хромосомы, чего в действительности не выявилось.

В ходе последующих отборов из линии Л195 по единичным растениям и дальнейшее их размножение было показано, что изначально Л195 составляла популяцию, содержащую две группы растений: первая несла комбинацию транслокаций 7DS•7DL-7Ae#1L и 2D/2S; вторая – только 2D/2S. Первая группа растений в ходе отборов была утрачена, и в дальнейшие исследования вошли потомки только с транслокацией 2D/2S. У линии Л200 цитогенетических исследований не проводилось, так как у Л195 и Л200 в родословной была одинаковая исходная пшенично-эгилопсная линия Л26⁶⁻⁴.

Наследование устойчивости к листовой ржавчине

По данным И.Г. Одинцовой (1991а, б), все полученные ею пшенично-эгилопсные линии несут сцепления гена(ов) устойчивости к листовой ржавчине (*LrSp*) с гаметоцидными генами (*Gc*), определяющими исключительную передачу устойчивости к данному патогену (ассоциация генов *LrSp* и *Gc*). Исследования гибридов сортов Л503 и Л505 с линией Л26⁶⁻⁴ полностью подтвердили сцепление гена *LrSp* с гаметоцидным геном/генами *Gc*. В F₁, F₂, F₃ и в последующих поколениях не наблюдалось выщепления восприимчивых растений и не менялся тип реакции на патоген, равный IT = 0. Однако при скрещивании Л26⁶⁻⁴ с линиями Л583 и Л2032 у гибридов F₂ были выявлены восприимчивые растения и расщепления соответствовали отношению 15R : 1S. Во всех комбинациях между сортами Л503, Л505, линиями Л583, Л2032 и линией Л26⁶⁻⁴ использовались как прямые, так и обратные скрещивания. При этом результаты расщепления в F₂ не изменялись: в гибридах с Л503 и

Л505 не было расщепления и наблюдались исключительно устойчивые растения, а в гибридах с Л583 и Л2032 выщеплялись восприимчивые растения. Таким образом, есть основания предполагать, что нет взаимодействия гаметоцидных генов и какой-либо конкретной цитоплазмы, и первые действуют независимо. Регулярное выявление в гибридах F_2 с линиями Л583, Л2032 восприимчивых растений, по-видимому, связано с ослаблением действия гаметоцидных генов, а не с разрывом сцепления между генами *LrSp* и *Gc*. Причина ослабления действия *Gc*-генов не установлена.

Отдельные исследования по идентификации генов устойчивости к листовой ржавчине у линий Л195 и Л200 не проводились. Однако, исходя из того, что устойчивость, обеспеченная геном *Lr19*, преодолена патогеном с 1994 г. (Sibikeev et al., 1996), **одновременное наличие у Л200** типа реакции на патоген $IT = 0$ и желтого цвета муки, как маркера на наличие *Lr19*, дают основание предполагать у данной линии присутствие чужеродного генетического материала как от *Ag. elongatum* (7DS•7DL-7Ae#1L), так и от *Ae. speltoides* 2D/2S. У Л195 цвет муки белый, что указывает на наличие чужеродной интрогрессии только от *Ae. speltoides*. Таким образом, у Л195 устойчивость к патогену определяется чужеродным(и) геном/генами от *Ae. speltoides* в 2D/2S-транслокации, а у Л200 – комбинацией транслокаций 7DS•7DL-7Ae#1L и 2D/2S.

При анализе пшенично-эгилопсных линий, полученных от И.Г. Одинцовой (Гулятьева и др., 2012), был выявлен молекулярный маркер Sr39#22, сцепленный с геном *Lr35*, интрогрессированным из генома *Ae. speltoides*. Как известно, ген *Lr35* сцеплен с геном *Sr39*, определяющим устойчивость к стеблевой ржавчине (McIntosh et al., 2013). К сожалению, дальнейшая интерпретация результатов невозможна, так как неизвестны оригинальные номера пшенично-эгилопсных линий, используемые в этих работах. Более того, эти выводы не могут распространяться на наши линии, так как гены *Lr* в Л195 и Л200, а точнее в исходной линии Л26⁶-4, относятся к ювенильным, а ген *Lr35* – возрастной, экспрессирующийся со стадии флагового листа. Кроме того, ген *Lr35* сцеплен со слабыми факторами, нарушающими нормальное расщепление у гибридов по устойчивости к листовой ржавчине (Kerber, Dusk, 1990), тогда как у гибридов с Л195 выщепление восприимчивых растений не наблюдается. Следует учесть также, что у гибридов с Л200 восприимчивые растения встречаются с низкой частотой, т. е. действие гаметоцидных генов высокое.

Устойчивость к расе стеблевой ржавчины Ug99 + Lr24 (ТТКСТ)

В 2010 и 2012 гг. в фитопитомнике эпифитотии стеблевой ржавчины оценивались как сильные. Поражение сортов-контролей, содержащих гены *Sr31* и *Sr24*, доходило до 100 %. На этом фоне степень устойчивости Л195 в 2010 г. оценивалась как 15MR, а в 2012 г. – 5RMR. У линии Л200 в 2010 г. – TR, а в 2012 г. – 5R. Таким образом, обе линии оказались устойчивыми к расе стеблевой ржавчины Ug99 + Lr24 (ТТКСТ). Так как при селекции этих линий растения отбирались только по устойчивости к листовой ржавчине, есть основания предполагать, что

ген *LrSp* линии Л195 сцеплен с *SrSp*, а в линии Л200 устойчивость к стеблевой ржавчине обусловлена как геном *SrSp*, так и *Sr25*, связанным с *Lr19*-транслокацией. В связи с этим тип реакции у последней более низкий, так как известно, что ген *Sr25* эффективен против ТТКСТ.

При оценке линий Л195 и Л200 на устойчивость к местной саратовской популяции *P. graminis* Pers. в 2006, 2008 и 2013 гг. на фоне естественной эпифитотии последние показали тип реакции $IT = 0$, при этом сорт-контроль Саратовская 68 имел показатель $IT = 3$ и степень поражения 50 %. Таким образом, транслокация 2D/2S от *Ae. speltoides* в линиях Л195 и Л200 несет высокоэффективный ген устойчивости к расе Ug99 + Lr24 и саратовской популяции возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы. Следует отметить, что австралийскими исследователями в линии С82.2, в транслокации 2D-2S#1 от *Ae. speltoides*, полученной E.R. Sears, кроме гена *Sr32* был выявлен эффективный ген устойчивости к стеблевой ржавчине, в том числе и к Ug99, *SrAes1* (Mago et al., 2013). Однако у этих генов устойчивости к стеблевой ржавчине не отмечено сцепления с генами устойчивости к листовой ржавчине.

Пребридинговые исследования линий Л195 и Л200

Период исследований продуктивности зерна можно разделить на годы с эпифитотиями листовой ржавчины – 2004, 2005, 2006, 2008, 2013 гг., годы с разной степенью засухи: сильная – 2007 и 2009, средняя – 2011 и 2012. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Без сомнения, часть изменчивости по агрономически важным признакам у Л195 и Л200 вызывается различиями в генотипах пшенично-эгилопсных линий с Л503, тем не менее исходя из родословной, можно предположить, что большая часть изменчивости определяется генетическим материалом *Ae. speltoides* от линии Л26⁶-4.

Как видно из табл. 1, по продуктивности зерна линии Л195 и Л200 в среднем за период 2004–2013 гг. значительно превзошли сорт Л503. Это превосходство проявилось в годы с эпифитотиями листовой ржавчины, в то время как в условиях засух как сильных, так и средних различия не наблюдались и линии были одного уровня с сортом Л503. Таким образом, наличие транслокации 2D/2S эффективно защищает от патогена в годы развития листовой ржавчины, при этом повышает продуктивность, а в годы засух не понижает устойчивость к этому виду абиотических стрессоров и сохраняет уровень продуктивности как у основного сорта-реципиента. Необходимо отметить отсутствие значимых различий между пшенично-эгилопсными линиями Л195 и Л200, несмотря на то что у последней в генотипе две чужеродные транслокации, 2D/2S и 7DS•7DL-7Ae#1L.

Одним из наиболее важных агрономических признаков является качество конечной продукции, у мягкой пшеницы это качество муки и хлеба. Линии Л195 и Л200 были оценены по физическим свойствам теста и хлебопекарным показателям с 2007 по 2013 гг., за исключением 2010 г. (табл. 2–4).

Как видно из табл. 2, линии Л195 и Л200 не уступают сорту Л503 по содержанию белка в зерне – это ценный

Таблица 1. Продуктивность зерна (кг/га) у пшенично-эгилопсных линий Л195 и Л200 за период 2004–2013 гг.

Сорт, линия (ген устойчивости)	Средняя за 2004–2013 гг.	Эпифитотии листовой ржавчины (2004–2006, 2008 и 2013 гг.)	Сильная засуха 2007, 2009 гг.	Средняя засуха 2011, 2012 гг.
Л503 (<i>Lr19</i>)	1837 a*	2365 a	667	1688
Л195 (<i>LrSp</i>)	2030 b	2649 b	660	1852
Л200 (<i>Lr19</i> + <i>LrSp</i>)	2006 b	2677 b	615	1721
НСР _{0,5}	164	245	NS	NS

* Здесь и в табл. 2–4 цифры в колонках, сопровождаемые разными буквами, значимо различаются на уровне $p < 0,5$ множественных сравнений по тесту Дункана.

Таблица 2. Содержание белка и клейковины у пшенично-эгилопсных линий Л195 и Л200 в среднем за период 2007–2013 гг.

Сорт, линия (ген устойчивости)	Белок, %	Клейковина	
		%	Показатель ИДК1, ед. п.
Л503 (<i>Lr19</i>)	18,0	42,7	83,8 с*
Л195 (<i>LrSp</i>)	18,2	39,4	71,8 b
Л200 (<i>Lr19</i> + <i>LrSp</i>)	17,4	36,8	64,4 a
НСР _{0,5}	NS	NS	6,7

Таблица 3. Показатели альвеографа у пшенично-эгилопсных линий Л195 и Л200 в среднем за период 2007–2013 гг.

Сорт, линия (ген устойчивости)	Упругость (P)	Отношение упругости к растяжимости (P/L)	Сила муки, е. а (W)
Л503 (<i>Lr19</i>)	83,2	1,4 a*	194,5 a
Л195 (<i>LrSp</i>)	126,0	2,4 ab	374,2 b
Л200 (<i>Lr19</i> + <i>LrSp</i>)	134,5	2,7 b	346,3 b
НСР _{0,5}	NS	1,01	108,54

Таблица 4. Хлебопекарные показатели у пшенично-эгилопсных линий Л195 и Л200 в среднем за период 2007–2013 гг.

Сорт, линия (ген устойчивости)	Объем, мм	Пористость, балл	Цвет муки
Л503 (<i>Lr19</i>)	774 b*	4,6	желтый
Л195 (<i>LrSp</i>)	598 ab	4,4	белый
Л200 (<i>Lr19</i> + <i>LrSp</i>)	517 a	4,0	желтый
НСР _{0,5}	183	NS	

показатель с учетом превосходства этих линий над сортом Л503 по продуктивности зерна. Таким образом, у Л195 и Л200 проявляется положительное свойство – не снижать количество белка при повышении продуктивности. По содержанию клейковины Л195 и Л200 не отличались от сорта Л503, но по показателю ИДК1 линии оказались значимо сильнее.

По показателям альвеографа линии Л195 и Л200 превзошли сорт Л503, причем по отношению P/L и силе муки значимо, и это также агрономически положительное свойство. Однако по хлебопекарным показателям линии Л195 и Л200 уступили сорту Л503, в том числе по объему хлебцев значимо (табл. 4). Возможно, последнее стало следствием более высокой силы муки у пшенично-эги-

лопсных линий. Из литературных данных известно, что транслокация 2B/2S#2, несущая гены *Lr35/Sr39*, существенно повышает количество белка, водопоглотительную способность, понижает показатель SDS-седиментации, отношение P/L. По отношению к объему хлебцев был обнаружен эффект сорта-реципиента, данная транслокация в сорте Thatcher незначимо повышала, а в сорте Kagee значимо понижала этот показатель (Labuschagne et al., 2002). Как видно, влияние исследуемой нами транслокации 2D/2S на показатели качества муки и хлеба не совпадают с таковыми у транслокации 2B/2S#2 (Labuschagne et al., 2002), при этом в нашем случае эти показатели являются более пригодными для селекции на хлебопечение.

В целом наши исследования показали высокую эффективность генов устойчивости к листовой и стеблевой ржавчинам *LrSp/SrSp* в транслокации 2D/2S, при этом наличие транслокации способствует повышению продуктивности зерна в годы эпифитотий патогенов, а в годы засух не понижает урожайность. Кроме того, в присутствии транслокации не понижается качество муки и хлеба, а некоторые показатели, в частности, сила муки, даже повышаются. Таким образом, данная транслокация может успешно использоваться в коммерческих сортах мягкой пшеницы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Адонова И.Г., Петраш Н.В., Тимонова Е.М., Христов Ю.А., Салина Е.А. Создание и изучение устойчивых к листовой ржавчине линий мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops speltoides* Tausch. Генетика. 2012;48(4):488-494.
- Гультяева Е.И., Иванова О.В., Маркелова Т.С., Сибикеев С.Н. Идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине у интрогрессивных сортов и линий мягкой пшеницы, созданных в НИИСХ Юго-Востока. Вестник защиты растений. 2012;(1):38-44.
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985.
- Одинцова И.Г., Агафонова Н.А., Богуславский Р.Л. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы с устойчивостью к бурой ржавчине, переданной от *Aegilops speltoides*. Исходный материал и проблемы селекции пшеницы и тритикале: Сб. науч. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л.: ВИР, 1991а;142:106-110.
- Одинцова И.Г., Богуславский Р.Л., Агафонова Н.А. Возможность использования гаметоцидных генов в селекции на устойчивость к болезням. Тез. докл. IX Всесоюз. совещ. по иммунитету растений к болезням и вредителям. Минск. Сентябрь 1991. Минск, 1991б;2:199-200.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат., 1988.
- Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum*. Plant Syst. Evol. 1994;192(1):117-145.
- Badaeva E.D., Zoshchuk S.A., Paux E., Gay G., Zoshchuk N.V., Roger D., Zelenin A.V., Bernard M., Feuillet C. Fat element – a new marker for chromosome and genome analysis in the Triticeae. Chrom. Res. 2010;18(6):697-709.
- Kerber E.R., Dyck P.L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult – plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum*. Genome. 1990;33:530-537.
- Labuschagne M.T., Pretorius Z.A., Grobbelaar B. The influence of leaf rust resistance genes *Lr29*, *Lr34*, *Lr35* and *Lr37* on bread making quality in wheat. Euphytica. 2002;124:65-70.
- Mago R., Verlin D., Zhang P., Bansal U., Bariana H., Jin Y., Ellis J., Hoxha S., Dundas I. Development of wheat-*Aegilops speltoides* recombinants and simple PCR-based markers for Sr32 and a new stem rust resistance gene on the 2S#1 chromosome. Theor. Appl. Genet. 2013 Dec;126(12):2943-55. Doi: 10.1007/s00122-013-2184-8. Epub 2013 Aug 30
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Roger J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. Proc. of the 12th Intern. Wheat Genetics Symp., 8–13 September 2013 Yokohama, Japan.
- Pradhan G.P., Prasad P.V.V., Fritz A.K., Kirkham M.B., Gill B.S. High temperature tolerance in *Aegilops* species and its potential transfer to wheat. Crop Sci. 2012;52:292-304.
- Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust Diseases of Wheat. Concepts and Methods of Disease Management. Mexico, 1992. DF: CIMMYT.
- Schneider A., Molnar I., Molnar-Lang M. Utilization of *Aegilops* (goat-grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica. 2008;163:1-19.
- Sibikееv S.N., Krupnov V.A., Voronina S.A., Elesin V.A. First report of leaf rust pathotypes virulent to highly effective *Lr*- genes transferred from *Agropyron* species to bread wheat. Plant Breeding. 1996;115:276-278.
- Singh R.P., Huerta-Espino J.H., Jin Y., Herrera-Foessel S., Njau P., Wan-yera R., Ward R.W. Current resistance sources and breeding strategies to mitigate Ug99 threat. Proc. of the 11th Intern. Wheat Genetics Symp., Brisbane, QLD, Australia. 2008.

Изменение солеустойчивости мягкой пшеницы в результате интрогрессии генетического материала *Aegilops speltoides* и *Triticum timopheevii*

Р.С. Юдина¹, И.Н. Леонова¹, Е.А. Салина¹, Е.К. Хлесткина^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Для повышения устойчивости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к различным факторам биотического и абиотического стресса в настоящее время широко применяется создание новых форм с использованием интрогрессий участков геномов других видов злаков. Одним из наиболее существенных абиотических факторов внешней среды, препятствующих расширению территории возделывания пшеницы, является засоление почвы. У неустойчивых сортов пшеницы в условиях засоления падает урожайность и ухудшается качество зерна. Целью данного исследования было установление степени влияния чужеродного генетического материала на устойчивость проростков мягкой пшеницы *T. aestivum* к засолению. Для скрининга интрогрессивных линий, несущих единичные фрагменты от *Aegilops speltoides* и *T. timopheevii* в хромосомах 2A, 5B и 6B мягкой пшеницы, применялся метод лабораторной оценки солеустойчивости проростков. Исходные родительские формы яровой мягкой пшеницы (Саратовская 29, Новосибирская 29 и Родина-1), обладающие умеренной солеустойчивостью, использовались в качестве контроля. В результате проведенной оценки установлено, что присутствие транслокации T5BS•5BL-5SL в геноме Новосибирской 29 и Родины-1 обеспечивает повышение устойчивости. Другая транслокация от *Ae. speltoides* (T6BS•6BL-6SL), наоборот, связана с понижением устойчивости. Различные фрагменты генома *T. timopheevii* также по-разному влияли на солеустойчивость: интрогрессия в хромосому 2A повышала, а в 5B существенно уменьшала устойчивость пшеницы к засолению. Наблюдаемые различия между исходными формами пшеницы и полученными на их основе интрогрессивными линиями обсуждаются с учетом локализации чужеродных интрогрессий в исследуемых образцах и расположения в хромосомах пшеницы известных генов, контролирующих солеустойчивость. Предполагается, что в длинном плече хромосомы 5B дистальнее маркера *Xgwm0604* располагается ранее не описанный ген, влияющий на солеустойчивость проростков пшеницы.

Ключевые слова: *Aegilops speltoides*; *Aegilops tauschii*; *Triticum aestivum*; *Triticum timopheevii*; солеустойчивость; мягкая пшеница; чужеродные интрогрессии.

Change of salt tolerance in common wheat after introgression of genetic material from *Aegilops speltoides* and *Triticum timopheevii*

R.S. Yudina¹, I.N. Leonova¹, E.A. Salina¹, E.K. Khlestkina^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

To improve biotic and abiotic stress tolerance in common wheat (*Triticum aestivum* L.), novel genotypes with genomic fragments introgressed from other cereal species are extensively developed. One of the most important abiotic environmental factors that impede the expansion of wheat cultivation areas is soil salinity. Salt-sensitive wheat varieties have poor yield and impaired grain quality when exposed to salinity. The aim of this study was to evaluate the degree of influence of alien genetic material on salinity tolerance in common wheat seedlings. Seedlings of introgression lines carrying single fragments of *Aegilops speltoides* and *T. timopheevii* genomes in common wheat chromosomes 2A, 5B, and 6B, were tested for salt tolerance. The parental common spring wheat genotypes Saratovskaya 29, Novosibirskaya 29 and Rodina-1, possessing moderate salt tolerance, were used as reference. The experiment showed that the presence of the translocation T5BS•5BL-5SL either in Novosibirskaya 29 or in Rodina-1 increased salt tolerance. On the contrary, another translocation between *T. aestivum* and *Ae. speltoides* (T6BS•6BL-6SL) made wheat more sensitive to salinity. Different fragments of *T. timopheevii* genome had different effects: introgression into the chromosome 2A increased salt tolerance, whereas introgression into chromosome 5B reduced it significantly. The observed differences between the parental wheat genotypes and the introgression lines derived from them are discussed with regard to the locations of alien introgression fragments



in the lines tested and the map positions of known wheat QTLs and major genes related to salt tolerance. It is assumed that a locus yet undescribed that affects wheat salt tolerance is located distal to the *Xgwm0604* marker on the long arm of chromosome 5B.

Key words: *Aegilops speltoides*; *Aegilops tauschii*; *Triticum aestivum*; *Triticum timopheevii*; salt tolerance; bread wheat; alien introgressions.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Юдина Р.С., Леонова И.Н., Салина Е.А., Хлесткина Е.К. Изменение солеустойчивости мягкой пшеницы в результате интрогрессии генетического материала *Aegilops speltoides* и *Triticum timopheevii*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):171-175. DOI 10.18699/VJ15.021

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Yudina R.S., Leonova I.N., Salina E.A., Khlestkina E.K. Change of salt tolerance in common wheat after introgression of genetic material from *Aegilops speltoides* and *Triticum timopheevii*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):171-175. DOI 10.18699/VJ15.021

Растущие потребности населения планеты в увеличении объема производства зерновых злаков могут быть удовлетворены за счет расширения территории возделывания и повышения урожайности основных зерновых культур, в том числе мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). При этом основным препятствием для расширения посевных площадей мягкой пшеницы являются неблагоприятные факторы, к которым пшеница недостаточно устойчива. Засоление почвы относится к одному из основных лимитирующих факторов, негативно влияющих на рост и развитие пшеницы. У пшеницы в условиях засоления ухудшается качество зерна и падает урожайность (Maas, Grieve, 1990; Maas et al., 1994; Turki et al., 2012; Houshmand et al., 2014). Одним из способов, позволяющих преодолеть негативное воздействие фактора засоления, служит использование толерантных к засолению форм пшеницы. Создание и культивирование таких форм позволит расширить земли сельскохозяйственного назначения и снизить потери урожая.

Поиск новых генов устойчивости к засолению осуществляется как в коллекциях самой мягкой пшеницы, так и среди других видов и родов злаков, чей генетический материал может быть интрогрессирован в геном мягкой пшеницы путем скрещиваний. Среди потенциальных доноров для повышения солеустойчивости пшеницы отмечаются такие виды злаков, как *Aegilops speltoides* Tausch. (Sadat Noori, 2005), *Ae. tauschii* Coss. (Gurmani et al., 2014), *Secale cereale* L. (Pat. RU 2138156; Sayed, 1985), *Thinopyrum bessarabicum* Savul. & Rayss (King et al., 1997), *Thinopyrum ponticum* Podp. (Suiyun et al., 2004). В большинстве опубликованных работ с применением чужеродно-замещенных или чужеродно-дополненных форм пшеницы показано влияние отдельных геномов или хромосом различных видов злаков на солеустойчивость. Однако для эффективного использования чужеродных генов в селекции пшеницы необходима более точная информация об их локализации. Современные технологии позволяют в короткие сроки получать интрогрессивные линии пшеницы, содержащие единичные фрагменты генетического материала видов-доноров в различных хро-

мосомах мягкой пшеницы (Pestsova et al., 2006; Адонина и др., 2012; Chen et al., 2013; Timonova et al., 2013). Такие линии могут быть эффективным экспериментальным средством выявления участков чужеродных хромосом, содержащих генетические факторы, ответственные за устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды (Юдина и др., 2014).

Цель данного исследования – установление степени влияния генетического материала единичных интрогрессивных *Ae. speltoides* и *T. timopheevii* на солеустойчивость мягкой пшеницы.

Материалы и методы

Экспериментальным материалом служили яровые формы мягкой пшеницы: Новосибирская 29, Родина-1, Саратовская 29 и линии, созданные на их основе (таблица). Поскольку солеустойчивость взрослых растений коррелирует с устойчивостью на ранних стадиях развития (при проращивании семян на засоленном субстрате), для ускоренного анализа коллекций используют методы лабораторной оценки, при которых тестирующим признаком служит подавление накопления биомассы и удлинения роста проростков в солевом растворе по сравнению с проростками пресного контроля (Иванов, Удовенко, 1970; Wang et al., 2011; Jamil et al., 2014; Mardani et al., 2014).

Для оценки проростков на солеустойчивость семена интрогрессивных линий и исходных форм пшеницы помещали в обработанные ультрафиолетом чашки Петри на увлажненную дистиллированной водой фильтровальную бумагу, выдерживали 24 ч при 4 °С в темноте для синхронизации прорастания, затем 24 ч при 20 °С и 12-часовом режиме освещения. В анализе было использовано не менее 96 растений каждого образца. Эксперимент проводился в трех повторностях. Проросшие семена переносили в чашки Петри, содержащие 150 мМ раствор NaCl или дистиллированную воду (контрольный опыт) и выдерживали 7 сут при 20 °С и 12-часовом режиме освещения, затем измеряли массу и длину первого листа (вместе с coleoptиле) и корней. Индекс солеустойчивости рассчитывали по массе листа (как процентное отношение

Растительный материал, используемый в работе

Краткое обозначение	Полное наименование	Характеристика чужеродного генетического материала	Литературный источник
N29	Сорт <i>T. aestivum</i> Новосибирская 29	–	–
N29– <i>Ae. speltoides</i> 5SL*	Интрогрессивная линия Новосибирская 29 – <i>Ae. speltoides</i> 21-4/933-1-5SL	Транслокация T5BS•5BL-5SL (донор <i>Ae. speltoides</i> k-389)	Патент RU 2484621
Rod.	<i>T. aestivum</i> Родина-1 (линия сорта Родина, отличающаяся отсутствием транслокации T1RS•1BL, характерной для сорта Родина)	–	Адолина и др., 2012
Rod.– <i>Ae. speltoides</i> 5SL*	Интрогрессивная линия Родина-1 – <i>Ae. speltoides</i> 16-9-5SL	Транслокация T5BS•5BL-5SL (донор <i>Ae. speltoides</i> k-389)	Адолина и др., 2012
Rod.– <i>Ae. speltoides</i> 6SL	Интрогрессивная линия Родина-1 – <i>Ae. speltoides</i> 17-7-6SL	Транслокация T6BS•6BL-6SL (донор <i>Ae. speltoides</i> k-389)	Адолина и др., 2012
S29	Сорт <i>T. aestivum</i> Саратовская 29	–	–
S29– <i>T. timopheevii</i> 2A	Интрогрессивная линия Саратовская 29 – <i>T. timopheevii</i> 832-2A-BC3	Интрогрессия от <i>T. timopheevii</i> var. <i>viticulosum</i> в хромосоме 2A	Timonova et al., 2013
S29– <i>T. timopheevii</i> 5B/5G	Интрогрессивная линия Саратовская 29 – <i>T. timopheevii</i> 832-5B-BC3	Интрогрессия от <i>T. timopheevii</i> var. <i>viticulosum</i> в хромосоме 5B	Timonova et al., 2013

* Линии N29–*Ae. speltoides* 5SL и Rod–*Ae. speltoides* 5SL несут транслокации T5BS•5BL-5SL *Ae. speltoides* равной протяженности при этом других интрогрессий от *Ae. speltoides* в геноме этих линий не обнаружено (Адолина и др., 2012; Патент RU 2484621).

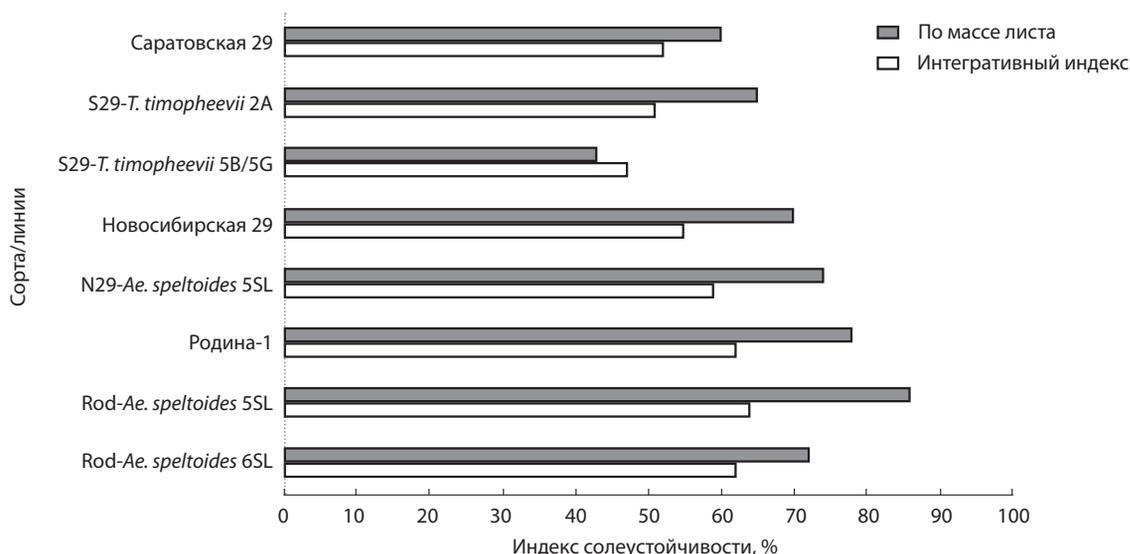


Рис. 1. Индексы солеустойчивости, выявленные у изученных форм пшеницы.

параметров массы, установленных при использовании раствора соли, к показателям массы, выявленным в контрольном опыте); интегративный индекс рассчитывали с учетом всех четырех измеряемых параметров (как среднее всех индексов). Достоверность изменений по сравнению с контролем оценивали с помощью непараметрического теста Манна–Уитни (*U*-test) (Mann, Whitney, 1947). Корреляцию между индексами, основанными на изменении массы листа, и интегративными индексами определяли по Спирмену (Spearman, 1904).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены индексы толерантности, установленные для каждого из 8 изученных сортов/линий. Между индексами, рассчитанными по массе листа, и интегративными индексами наблюдалась высокая корреляция ($r_s = 0,935$; $p < 0,01$), поэтому при дальнейшем обсуждении полученных результатов будет рассматриваться один из этих индексов (по массе листа). Снижение массы листа при культивировании в растворе 150 мМ NaCl относительно контроля у всех изученных форм пшеницы было

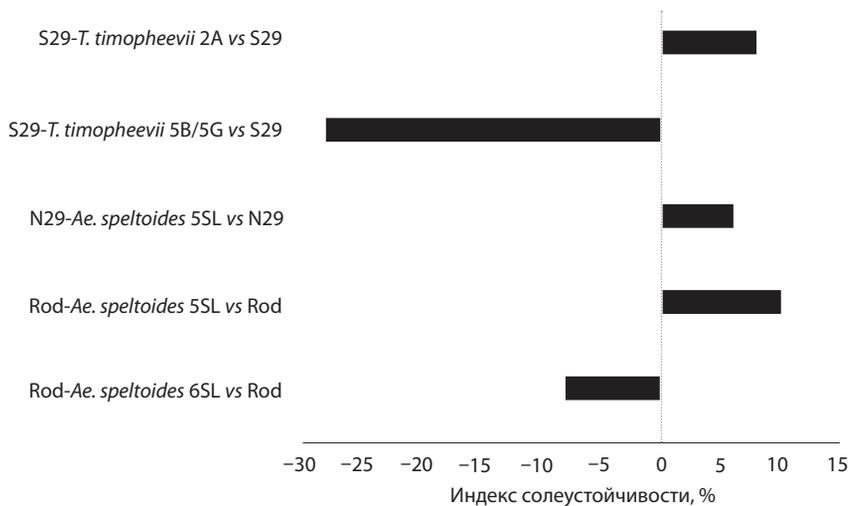


Рис. 2. Изменение индексов солеустойчивости (по массе листа) у интрогрессивных линий по сравнению с исходными формами пшеницы.

достоверным (см. Доп. материалы¹). Исходные родительские формы обладали умеренной солеустойчивостью, индекс варьировал от 60 до 78 %, при этом он повышался в ряду Саратовская 29 < Новосибирская 29 < Родина-1 (рис. 1). Изменение индексов у интрогрессивных линий зависело от хромосомной локализации и происхождения чужеродного генетического материала (рис. 1, 2).

Изменения солеустойчивости интрогрессивных линий в положительную или отрицательную сторону по сравнению с исходными формами пшеницы указаны на рис. 2. Показано, что присутствие транслокации T5BS•5BL-5SL в геномах как Новосибирской 29, так и Родины-1 приводит к повышению устойчивости на 6–10 %. Линия мягкой пшеницы, полученная на основе исходной формы Родина-1, несущая другую транслокацию от *Ae. speltoides* (T6BS•6BL-6SL), показала снижение индекса солеустойчивости по сравнению с исходной формой (рис. 2, линия Rod.-*Ae. speltoides* 6SL).

Различное влияние на солеустойчивость оказало введение в геном сорта Саратовская 29 разных фрагментов генома *T. timopheevii* (рис. 2). Существенное снижение индекса солеустойчивости (почти на 30 %) было выявлено у линии, содержащей фрагмент интрогрессии участка хромосомы 5G в теломерной области хромосомы 5BL (рис. 2), в то время как в случае с линией, несущей интрогрессию от *T. timopheevii* в хромосоме 2A, наблюдалось положительное влияние на солеустойчивость.

Было проведено сравнение локализации интрогрессий в изученных линиях (Адонина и др., 2012; Пат. RU 2484621; Timonova et al., 2013) с положением на хромосомах 2A, 5B и 6B пшеницы генов и QTL, связанных с солеустойчивостью (Lindsay et al., 2004; Ma et al., 2007; Genc et al., 2010). Согласно литературным данным, пять локусов, проявляющих связь с солеустойчивостью, были картированы в хромосоме 2A в районе, который соответствует локализации фрагмента интрогрессии от *T. timopheevii* у изученной в настоящей работе линии S29-*T. timopheevii* 2A. В частности, локусы *Q.sb2A* и *Q.Na2A* были ранее выявлены при анализе таких параметров, как биомасса проростков при засолении и концентрация Na^+ в проростках соответственно (Genc et al., 2010). Локусы *Qpdws-2A.2* и *Qsfws-2A.1* были определены в условиях засоления при оценке таких показателей, как сухая и сырая масса проростков (Ma et al., 2007). Главный ген *Nax1*, регулирующий содержание ионов натрия в клетке (кодирующий натриевый транспортер НКТ7) (Huang et al., 2006), также локализован в районе хромосомы 2A (Lindsay et al., 2004), соответствующую локализации фрагмента интрогрессии в линии S29-*T. timopheevii* 2A. Таким образом, нельзя

исключать, что выявленное в настоящей работе положительное влияние фрагмента генома *T. timopheevii*, интрогрессированного в хромосому 2A сорта Саратовская 29, связано с каким-либо из перечисленных выше локусов количественных признаков (*Q.sb2A*, *Q.Na2A*, *Qpdws-2A.2* или *Qsfws-2A.1*) или геном *Nax1*.

В хромосоме 5B к настоящему времени выявлен ряд локусов, ассоциированных с солеустойчивостью взрослых растений и проростков пшеницы (Ma et al., 2007; Genc et al., 2010), однако локализация этих QTL (в интервалах *Xgwm499-Xwmc289* и *Xfbb12.2-Xfba127*) не совпадает с более дистальным местоположением участка генома *T. timopheevii*, интрогрессированного в хромосому 5B сорта Саратовская 29 (Timonova et al., 2013). Не исключено, что негативное влияние данного фрагмента на солеустойчивость проростков пшеницы (рис. 2) связано с ранее не описанным локусом, расположенным дистальнее маркера *Xgwm0604*.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что фрагменты, происходящие из разных хромосом *T. timopheevii*, различным образом влияют на солеустойчивость проростков мягкой пшеницы.

В отличие от S29-*T. timopheevii* 5B/5G, в линиях, содержащих участок хромосомы 5SL от *Ae. speltoides*, точка разрыва транслокации в хромосоме 5B располагается проксимальнее маркеров *Xgwm0604* (Адонина и др., 2012; Пат. RU 2484621; Timonova et al., 2013), поэтому область чужеродной транслокации может частично совпадать с районом, где были выявлены QTL, ассоциированные с солеустойчивостью, в том числе в тестах на проростках – локусы *Q.sb5B* (биомасса проростков) и *Q.K5B* (концентрация K^+ в проростках) (Genc et al., 2010). Именно с данными локусами может быть связано положительное влияние фрагмента генома *Ae. speltoides*, интрогрессированного в хромосому 5B Новосибирской 29 и Родины-1.

В линии Rod.-*Ae. speltoides* 6SL транслокация в длинном плече хромосомы 6B перекрывается с районом локализации *Qsii-6B.4* (локус, контролирующий степень повреждения проростков при засолении – «salt

¹ Дополнительные материалы см. в Приложении 1 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2015-06/appx1.pdf>

injury index at seedling stage») (Ma et al., 2007). Отрицательное влияние транслокации T6BS•6BL-6SL может быть потенциально связано с данным локусом.

Ранее при изучении синтетической аллогексаплоидной формы пшеницы, полученной на основе скрещивания *T. durum* и *Ae. speltoides*, было показано положительное влияние генома *Ae. speltoides* на устойчивость пшеницы к засолению (Sadat Noori, 2005), однако до сих пор не был установлен вклад конкретных хромосом в формирование данного признака.

В настоящей работе впервые выявлено влияние фрагментов хромосом 5S и 6S от *Ae. speltoides*, а также участков хромосом 2A^t и 5G *T. timopheevii* на солеустойчивость проростков пшеницы.

Благодарности

Работа поддержана Государственной бюджетной программой VI.53.1.5.

Авторы благодарят Ольгу Викторовну Захарову за техническую помощь в экспериментальной работе.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Адонина И.Г., Сусолкина Н.В., Тимонова Е.М., Христов Ю.А., Салина Е.А. Создание линий мягкой пшеницы с транслокациями от *Aegilops speltoides* Tausch. и их оценка на устойчивость к листовой ржавчине. *Генетика*. 2012;48(4):488-494.
- Иванов Ю.М., Удовенко Г.В. Технологическая модификация метода проростков и анализ его пригодности для оценки солеустойчивости растений. *Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции*. 1970;43:160-168.
- Пат. RU 2138156. Способ создания солеустойчивых форм мягкой пшеницы. Щапова А.И., Кравцова Л.А. Оpubл. 27.09.1999.
- Пат. RU 2484621. Способ создания линий мягкой пшеницы, устойчивых к бурой ржавчине. Салина Е.А., Леонова И.Н., Петраш Н.В., Адонина И.Г., Щербань А.Б. Оpubл. 20.06.2013.
- Юдина Р.С., Леонова И.Н., Салина Е.А., Хлесткина Е.К. Влияние чужеродных интрогрессий в геноме пшеницы на ее устойчивость к осмотическому стрессу. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/1):643-649.
- Chen P., You C., Hu Y., Chen S., Zhou B., Cao A., Wang X. Radiation-induced translocations with reduced *Haynaldia villosa* chromatin at the *Pm21* locus for powdery mildew resistance in wheat. *Mol. Breed.* 2013;31:477-484. DOI: 10.1007/s11032-012-9804-x
- Genc Y., Oldach K., Verbyla A.P., Lott G., Hassan M., Tester M., Wallwork H., McDonald G. Sodium exclusion QTL associated with improved seedling growth in bread wheat under salinity stress. *Theor. Appl. Genet.* 2010;121:877-894. DOI: 10.1007/s00122-010-1357-y
- Gurmani A.R., Khan S.U., Mabood F., Ahmed Z., Butt S.J., Din J., Mujeeb-Kazi A., Smith D. Screening and selection of synthetic hexaploid wheat germplasm for salinity tolerance based on physiological and biochemical characters. *Int. J. Agric. Biol.* 2014;16:681-690.
- Houshmand S., Arzani A., Mirmohammadi-Maibody S.A.M. Effects of salinity and drought stress on grain quality of durum wheat. *Commun. Soil Sci. Plant Analysis.* 2014;45:297-308. DOI: 10.1080/00103624.2013.861911
- Huang S., Spielmeier W., Lagudah E.S., James R.A., Platten J.D., Dennis E.S., Munns R. A sodium transporter (HKT7) is a candidate for *Nax1*, a gene for salt tolerance in durum wheat. *Plant Physiol.* 2006;142:1718-1727. DOI: 10.1104/pp.106.088864
- Jamil M., Kanwal M., Aslam M.M., Khan S.U., Malook I., Tu J., Rehman S. Effect of plant-derived smoke priming on physiological and biochemical characteristics of rice under salt stress condition. *Austr. J. Crop Sci.* 2014;8:159-170.
- King I.P., Forster B.P., Law C.C., Cant K.A., Orford S.E., Gorham J., Reader S., Miller T.E. Introgression of salt-tolerance genes from *Thinopyrum bessarabicum* into wheat. *New Phytologist.* 1997;37:75-81. DOI: 10.1046/j.1469-8137.1997.00828.x
- Lindsay M.P., Lagudah E.S., Hare R.A., Munns R. A locus for sodium exclusion (*Nax1*), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. *Functional Plant Biol.* 2004;31:1105-1114. DOI: 10.1071/FP04111
- Ma L.Q., Zhou E.F., Huo N.X., Zhou R.H., Wang G.Y., Jia J.Z. Genetic analysis of salt tolerance in a recombinant inbred population of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica.* 2007;153:109-117. DOI: 10.1007/s10681-006-9247-8
- Maas E.V., Grieve C.M. Spike and leaf development of salt-stressed wheat. *Crop Sci.* 1990;30:1309-1313. DOI: 10.2135/cropsci1990.0011183X003000060031x
- Maas E.V., Lesch S.M., Francois L.E., Grieve C.M. Tiller development in salt-stressed wheat. *Crop Sci.* 1994;34:1594-1603. DOI: 10.2135/cropsci1994.0011183X003400060032x
- Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Ann. Math. Statist.* 1947;18:50-60. DOI: 10.1214/aoms/1177730491
- Mardani Z., Rabiei B., Sabouri H., Sabouri A. Identification of molecular markers linked to salt-tolerant genes at germination stage of rice. *Plant Breeding.* 2014;133:196-202. DOI: 10.1111/pbr.12136
- Pestsova E.G., Röder M.S., Börner A. Development and QTL assessment of *Triticum aestivum*-*Aegilops tauschii* introgression lines. *Theor. Appl. Genet.* 2006;112:634-647. DOI: 10.1007/s00122-005-0166-1
- Sadat Noori S.A. Assessment for salinity tolerance through intergeneric hybridisation: *Triticum durum* × *Aegilops speltoides*. *Euphytica.* 2005;146:149-155. DOI: 10.1007/s10681-005-8001-y
- Sayed H.I. Diversity of salt tolerance in a germplasm collection of wheat (*Triticum* spp.). *Theor. Appl. Genet.* 1985;69:651-657. DOI: 10.1007/BF00251118
- Spearman C. The proof and measurement of association between two things. *Amer. J. Psychol.* 1904;15:72-101. DOI: 10.2307/1412159
- Suiyun C., Suiyun G., Taiyong Q., Fengnin X., Yan J., Huimin C. Introgression of salt-tolerance from somatic hybrids between common wheat and *Thinopyrum ponticum*. *Plant Science.* 2004;167:773-779. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.05.010
- Timonova E.M., Leonova I.N., Röder M.S., Salina E. Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome. *Mol. Breed.* 2013;31:123-136. DOI: 10.1007/s11032-012-9776-x
- Turki N., Harrabi M., Okuno K. Effect of salinity on grain yield and quality of wheat and genetic relationships among durum and common wheat. *J. Arid Land Studies.* 2012;22(1):311-314.
- Wang Z., Wang J., Bao Y., Wu Y., Zhang H. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. *Euphytica.* 2011;178:297-307. DOI: 10.1007/s10681-010-0287-8

Возможности создания сортов яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с широкой изменчивостью параметров вегетационного периода

П.Н. Мальчиков, М.Г. Мясникова

Федеральное государственное научное учреждение «Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова», пос. Безенчук, Самарская область, Россия

Дифференциация по продолжительности вегетационного периода является неотъемлемым и во многом определяющим фактором целенаправленного формирования системы сортов в регионе. Это связано с тем, что нельзя создать универсальный сорт, который с одинаковой эффективностью использует ресурсы среды и однотипно реагирует на осадки в разные периоды вегетации, фоны температур и динамику суховея. Исследование направлено на поиск путей расширения варьирования параметров вегетационного периода твердой пшеницы в Среднем Поволжье. Были реализованы эксперименты по изучению эффектов генов *Vrn* (1,2) на структуру и продолжительность вегетационного периода, определены в зависимости от скороспелости генотипа основные показатели интегральных продукционных процессов в системе главных компонент Хармана, исследованы элементы формирования урожайности и параметры вегетационного периода в зависимости от уровня адаптивности сортов. В результате проведенных исследований установлено: 1) разнообразие твердой пшеницы по скороспелости в условиях Среднего Поволжья определяется значительным превалированием генетических систем, отличных от системы *Vrn* генов; 2) среднеспелые и среднепоздние генотипы имеют более высокий потенциал продуктивности, чем скороспелые, что в условиях Среднего Поволжья определяется формированием мощной листовой поверхности и фотосинтетического потенциала; 3) на продолжительность периода «всходы – колошение» значительное влияние оказывает взаимодействие «сорт – температура среды» с эффектом противоположной реакции сортов различного эколого-географического происхождения, что необходимо учитывать в селекционных программах; 4) наиболее сильная зависимость формирования элементов продуктивности от продолжительности вегетационного периода наблюдалась в группах неадаптированных генотипов; 5) расширение границ варьирования вегетационного периода твердой пшеницы в Среднем Поволжье возможно преимущественно за счет позднеспелых компонентов сортовых систем.

Ключевые слова: твердая пшеница; сорт; генетическая система; продуктивность фотосинтеза; вегетационный период; всходы – колошение; гипотетический фактор.

Approaches to the development of durum wheat cultivars (*Triticum durum* Desf.) with wide variability of the growing season

P.N. Malchikov, M.G. Myasnikova

N.M. Tulaikov Samara Research Institute of Agriculture, Bezenchuk settlement, Samara region, Russia

Differentiation in the duration of growing period is an inherent and, in many respects, decisive factor of task-oriented formation of the cultivar pool in the region. The cause is that one cannot develop a universal cultivar that would be equally effective in utilization of environmental resources and equally responsive to precipitation at different stages of plant growth, to temperature backgrounds, and to the hot wind pattern. That is why the aim of the research is to find ways to extend the range of parameters of the durum wheat growth season in the Middle Volga region. Experiment were conducted to study effects of *Vrn* genes (1, 2) on the structure and duration of the growth season. Chief parameters of integral production processes were determined with regard to earliness of ripening. The formation of yield components and parameters of the growth season were tested in the Harman's system of principal components in the context of cultivar adaptivity. The experiments showed that (1) The diversity of durum wheat in the earliness of ripening in the Middle Volga region was determined by predominance of genetic systems other than the system of *Vrn* genes. (2) Mid-ripening and mid-late genotypes had higher productivity potentials compared to early-ripening ones. In the climatic conditions of the Middle Volga region, it was due to the production of a large foliage surface and photosynthetic potential. (3) The duration of the emergence–heading time span was greatly influenced by the cultivar–air temperature interaction. Opposite responses were recorded in varieties of different ecological and geographic origins, and this should be taken into account in breeding programs. (4) The strongest correlation of yield components and duration of the growth season was observed in groups of non-adapted genotypes. (5) The variation limits of the durum wheat growth season in the Middle Volga region can be

extended mainly owing to late-ripening components of cultivar pools.

Key words: durum wheat; cultivar; genetic system; photosynthetic productivity; growth season; emergence – heading; hypothetical factor.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г. Возможности создания сортов яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с широкой изменчивостью параметров вегетационного периода. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):176-184. DOI 10.18699/VJ15.022

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Malchikov P.N., Myasnikova M.G. Approaches to the development of durum wheat cultivars (*Triticum durum* Desf.) with wide variability of the growing season. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2): 176-184. DOI 10.18699/VJ15.022

Оптимальная продолжительность вегетации позволяет наилучшим образом использовать ресурсы среды и агротехники зоны возделывания и избегать негативного влияния неблагоприятных факторов среды. Предшествующая селекция эмпирическим путем для каждой агроэкологической зоны вначале стихийно, а затем целенаправленно создала формы растений с определенными параметрами вегетационного периода.

В Среднем Поволжье в начале XX в. возделывались сорта, которые в основном относились к раннеспелым и среднеранним сортам, позднеспелых сортов здесь не выращивали (Фляксбергер, 1935). Первые селекционные сорта, получившие широкое распространение, были раннеспелыми или среднеранними. Начиная с 1960-х годов преобладающим становится среднеспелый биотип. Диапазон продолжительности вегетационного периода в рамках экологической группы современных сортов, относящихся к среднеспелому биотипу, невелик: Безенчукская степная, Безенчукская 205, Безенчукская 207 и Памяти Чеховича – самые ранкоколосящиеся сорта, опережают наиболее поздний сорт Безенчукский янтарь по колошению на 5–6 дней, разница по срокам созревания еще меньше, 2–4 дня. Эти пределы вегетационного периода для условий Среднего Поволжья принято считать оптимальными (Мальчиков, 2009). Для лучшей организации производственного цикла, увеличения доли высококачественного стекловидного зерна и повышения рентабельности требуются конкурентоспособные сорта с большими различиями по вегетационному периоду (Кузьмин, 1967; Романенко и др., 2005). Значимость этого направления селекции объясняется еще и тем, что нельзя создать универсальный сорт, который с одинаковой эффективностью использует ресурсы среды и, прежде всего, запасы продуктивной влаги, как в годы с обилием весенних осадков, так и в годы с летними осадками, различным их сочетанием, фонами температур и суховея. Это связано с тем, что скорость развития растений контролируется генетическими системами, которые совершенно определенно (детерминированно) реагируют с условиями среды таким образом, что ранги сортов при значительном колебании погоды практически не меняются. В то же время известно, что параметры вегетационного периода или генетические системы, его контролирующие, взаимодействуя с условиями среды, существенно влияют на продукционный процесс, формирование урожайности и ее компонентов (Коваль, 2002). В связи с этим задача

исследований заключалась в поиске путей и возможностей расширения границ варьирования вегетационного периода для сортовой популяции твердой пшеницы в Среднем Поволжье. Необходимо было проанализировать роль известных генетических систем, контролирующих продолжительность вегетации, изучить особенности продукционных процессов разных по скороспелости сортов и оценить перспективы их селекционного улучшения на основе имеющегося исходного материала.

Материал и методы

В первом из трех поставленных экспериментов при использовании линии BS1E (Vrn 1), BS2E (Vrn 2) и местного среднеспелого сорта стандарта – Безенчукская 182 изучались эффекты генов *Vrn* на структуру и продолжительность вегетационного периода. Фенологические наблюдения, фиксирование органогенетических состояний растений в онтогенезе выполнены в соответствии с классификацией этапов органогенеза (Куперман и др., 1982) и с учетом международной шкалы кодовых обозначений фенофаз роста хлебных злаков (Zadoks et al., 1974). Опыт проведен в 2004, 2005 гг. в ручном посеве на делянках 0,5 м² в трех рендомизированных повторениях. Во втором многолетнем (1997 г., 1998 г., 2000 г.) эксперименте, включавшем генотипы поволжской селекции, представлявшие скороспелый, среднеспелый и среднепоздний морфотипы твердой пшеницы, исследовалась зависимость эффективности продукционного процесса (биологический урожай надземной массы за весь вегетационный период – У.биол., урожай зерна – У.хоз., площадь листьев – ПЛ, фотосинтетический потенциал – ФП, чистая продуктивность фотосинтеза – Ф.ч.пр., хозяйственная эффективность – К.хоз.), от продолжительности вегетационного периода. Морфотипы по группам спелости были представлены сортами: 1) среднеранние – к-38, 214с-94 (селекции Краснокутской СОС и НИИСХ Юго-Востока соответственно), 2) среднепоздние – Безенчукский янтарь, Гордеиформе 814, Леукурум 1690, Гордеиформе 1674 (Самарский НИИСХ). Сравнение среднепоздних сортов проводили с Безенчукской 182 – среднеспелым стандартным сортом. В среднеранней группе для сравнения с Безенчукской 182 каждый год брали признаки лучшего по продуктивности генотипа. Третий эксперимент выполнен на базе данных конкурсного и экологического сортоиспытаний. Анализировались данные за 2004–2012 гг.

В этом эксперименте элементы структуры урожая и вегетационного периода изучены в системе главных компонент Хармана (1972). Метод главных компонент предназначен для совместного анализа взаимосвязанных признаков. Он позволяет весь комплекс признаков распределить на группы путем нахождения нескоррелированных признаков. В процессе их анализа выделяются так называемые гипотетические факторы, представляющие собой сложные системы, отличающиеся глубоким внутренним взаимодействием входящих в них признаков и существенной независимостью от других выделенных систем. Системы, в которых два или более признака связаны между собой обратной зависимостью, т. е. компенсируют изменение уровней друг друга, являются автокомпенсаторными или обладающими свойством авторегуляции своей эффективности. Группы тесно связанных между собой признаков могут быть рассмотрены как один. При этом часть избыточных признаков отсеивается, что ведет к оптимизации селекционного процесса. Опыты проводились на делянках с учетной площадью 20,0 м² и рендомизированным размещением вариантов в 4–6 блока. Отбор растений во втором и третьем экспериментах, для определения параметров продукционного процесса и элементов структуры урожайности проводился в каждом полевом повторении в трех точках на площадках суммарной площадью 0,81 м². Во втором эксперименте отбор исследуемых растений проводился в течение онтогенеза растений в фазы кущения, трубкования, колошения и созревания. В лабораторных условиях растения каждого снопа разделяли на главные и боковые побеги, подсчитывали их количество, затем в пределах главных и боковых побегов растения разделяли на листья, стебли, колосья. После высушивания в сушильных шкафах до абсолютно сухого состояния определяли биомассу. Площадь листьев вычисляли весовым методом при помощи высечек в средней части зеленой, активно фотосинтезирующей поверхности листа (Ничипорович и др., 1961). Полевые эксперименты и лабораторный анализ растений выполнены на основе рекомендованных методических пособий (Кумаков и др., 1982; Доспехов, 1985).

Результаты и обсуждение

В настоящее время бесспорным является наличие трех генетических систем, обеспечивающих весь диапазон изменчивости по длительности вегетации: 1) отзывчивость на яровизацию (*Vrn*); 2) отзывчивость на фотопериод (*Ppd*); 3) скороспелость как таковая – *per se* (*Eps*) (Стельмах, 1987; Гончаров, 2012). В геноме мягкой пшеницы обнаружены и локализованы 4 гена, эпистатичных к процессу яровизации (*Vrn 1*, *Vrn 2*, *Vrn 3*, *Vrn 5*), и 3 гена нечувствительности к фотопериоду (*Ppd 1*, *Ppd 2*, *Ppd 3*). Кроме того, предполагается существование генетической системы отзывчивости продолжительности межфазных периодов «всходы – кущение», «всходы – колошение» и элементов продуктивности колоса на интенсивность освещения (Евтушенко, Чекуров, 2000).

В условиях Западной Сибири на изогенных линиях **Black Spring Emmer BS1E** (*Vrn 1*) и **Black Spring BS2E** (*Vrn 2*) установлено влияние этих генов на параметры вегетационного периода в тетраплоидном геноме

(AABB) (Гончаров, 2012). Они были аналогичны их эффектам в геноме мягкой пшеницы (AABBDD). Почти все изученные сорта твердой пшеницы России, Украины и Казахстана имели доминантный ген *Vrn 1*, только Ангара и Безенчукская 139 – 2 гена, один *Vrn 1*, второй, предположительно, *Vrn 2*. Высказано мнение (Гончаров, 2012) о том, что скороспелость твердой пшеницы может быть значительно изменена не только за счет иных генов *Vrn*, но и других генетических систем (гены *Ppd*, *per se*). Результаты изучения изогенных линий BS1E (*Vrn 1*) и BS2E (*Vrn 2*) в Самарском НИИСХ в 2004–2005 гг., представлены в табл. 1. В течение всего вегетационного периода стандартный сорт (Безенчукская 182) значительно опережал по скорости развития наиболее скороспелую линию BS1E (*Vrn 1*). Растения поздней линии BS2E (*Vrn 2*) в условиях 2005 г. на фоне повышенных температур воздуха в начальный период вегетации не преодолели фазы трубкования. Учитывая эпистатичность гена *Vrn 1* к гену *Vrn 2*, можно предположить, что значительное разнообразие твердой пшеницы по скороспелости (скорости развития) в условиях Среднего Поволжья определяется другими генетическими системами, отличными от системы *Vrn* генов. Действие генов *Ppd* в Среднем Поволжье в условиях длинного дня маловероятно. Очевидно, что определяющее влияние здесь вносит генетическая система скороспелости как таковой (*per se*).

Гены *per se*, могут быть связаны с разнообразными физиологическими процессами в растениях (функции роста органов, синтез и распределение гормонов по органам, фонд ассимилятов и минеральных веществ) и взаимодействовать с внешней средой (температура, влажность и др.). Поэтому в селекционных питомниках довольно часто отмечается появление ультраскороспелых и очень поздних линий, стабильно сохраняющих эти особенности при пересеве. Оценить перспективы отбора тех или иных генотипов, обосновать пределы изменчивости признака и неотъемлемые атрибуты соответствующих морфотипов – первые задачи, которые необходимо решить при реализации направлений селекции по продолжительности вегетации. Наиболее информативную в этом плане базу данных для селекционера дают исследования интегральных продукционных процессов адаптированных сортов или селекционных линий, относящихся к разным группам спелости. Такие эксперименты были проведены в конце 1990-х – начале 2000-х гг. (табл. 2).

Первая группа среднепоздних сортов, созданных одновременно с Безенчукской 182, имеет общих с ней предков в родословной. По дате колошения эти сорта на 3–4 дня запаздывают по сравнению с Безенчукской 182. Вторая среднепоздняя группа, созданная в последующий период, колосится на 5–6 дней позднее Безенчукской 182 и не имеет с ней общих предков. Тем не менее общие тенденции для обеих групп сортов довольно отчетливо видны. По урожаю общей биомассы и зерна изучавшиеся сорта не отличались от Безенчукской 182. Различия между этими группами сортов связаны с особенностями накопления биомассы и ее распределения между вегетативной частью и зерном. В первой группе не обнаружено значимых различий с Безенчукской 182 по всем исследуемым признакам, но тенденции увеличения ФП и снижения

Таблица 1. Продолжительность вегетации (дни) изогенных по *Vrn* генам линий BS1E и BS2E в сравнении с сортом твердой пшеницы Безенчукская 182. Безенчук, 2004–2005 гг.

Сорт, линия	Всходы – кущение		Кущение – трубкование		Трубкование – колошение		Колошение – созревание	
	2004 г.	2005 г.	2004 г.	2005 г.	2004 г.	2005 г.	2004 г.	2005 г.
Безенчукская 182	12	11	18	17	17	20	40	38
BS1E (<i>Vrn1</i>)	15	18	25	29	20	28	48	43
BS2E (<i>Vrn2</i>)	18	22	32	41	24	–	46	–
HCP _{0,05}	1,5	1,7	1,4	1,0	1,2	1,0	1,5	1,3

Таблица 2. Основные показатели продуктивности и фотосинтетической деятельности сортов яровой твердой пшеницы (в % к Безенчукской 182)

Сорт	Всходы – колошение, дни	У.биол.	У.хоз.	К.хоз.	ФП	Ф.ч.пр.
Среднепоздние сорта, созданные одновременно с Безенчукской 182 и имеющие с ней общих предков, в среднем за 1997, 1998, 2000 гг.						
Безенчукская 182	45,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Безенчукский янтарь	48,5	102,1	100,3	99,9	117,9	89,6
Гордеиформе 814	47,5	95,7	92,0	100,4	106,8	94,2
HCP _{0,05}	1,8	Ff < Ft				
Среднепоздние сорта, созданные после Безенчукской 182 и не имеющие с ней общих предков, в среднем за 2000, 2001 гг.						
Безенчукская 182	46,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Гордеиформе 1674	52,0	111,0	101,0	90,9	133,5	83,1
Леукурум 1690	51,0	106,0	97,9	92,4	114,7	92,4
HCP _{0,05}	1,5	Ff < Ft	Ff < Ft	7,5	13,2	8,9
Среднеранние сорта к-38 (Краснокутская СОС), 214с-94 (НИИСХ Юго-Востока), в среднем за 1997, 1998, 2000 гг.						
Безенчукская 182	45,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
214с-94, к-38	40,0	81,3	71,2	87,6	73,1	111,2
HCP _{0,05}	1,8	10,3	10,1	12,1	13,1	11,1

У.биол. – биологический урожай надземной массы за весь вегетационный период; У.хоз. – урожай зерна; К.хоз. – хозяйственная эффективность; ФП – фотосинтетический потенциал, Ф.ч.пр. – чистая продуктивность фотосинтеза.

значений Ф.ч.пр. с ростом продолжительности вегетации отчетливо определились. Сорта второй группы достоверно превосходили Безенчукскую 182 по ФП, но уступали ей по Ф.ч.пр. и К.хоз. Значение имеет то обстоятельство, что позднеспелость сортов не повлияла отрицательно на урожай зерна.

Инорайонные сорта среднераннего биотипа (214с-94, к-38) колосились на 5–7 дней раньше Безенчукской 182, налив и созревание зерна у них также проходили в более ранние сроки. По урожайности К.хоз., ФП они значительно уступали, а по Ф.ч.пр. превосходили стандарт. Поскольку эти соотношения были стабильными по годам, можно предположить, что скороспелым сортам с очень быстрым развитием в начале вегетации и сдержанным ростом ассимиляционной поверхности даже при высоких значениях Ф.ч.пр. не удастся эффективно использовать условия среды в Среднем Поволжье при формировании конку-

рентоспособной величины урожая зерна. Это объясняется низкой продуктивностью колоса.

Среднеспелые и среднепоздние генотипы имеют более высокий потенциал продуктивности, что определяется основополагающими компонентами продукционного процесса – формированием мощной листовой поверхности, фотосинтетического потенциала и продуктивного колоса. При благоприятных условиях после колошения они имеют продолжительный период налива зерна и в этих условиях оказываются самыми продуктивными. Тем не менее в геноме сортов обоих типов в процессе их селекции для компенсации несбалансированных (отклоняющихся от оптимума) циклов вегетации необходимо вводить комплекс признаков устойчивости к стрессам (засухе, болезням, полеганию). Реализация этого направления требует проведения целенаправленного поиска соответствующих источников и доноров необходимых генов.

Широкое разнообразие по вегетационному периоду было обнаружено при изучении питомника «КАСИБ» (казахстанско-сибирская программа улучшения пшеницы под эгидой СИММУТ) и коллекции современных сортов. Диапазон изменчивости признака «всходы–колошение» по двулетним результатам составил от 40 (Краснокутка 13) до 51 дня (Омский изумруд). Весь набор изученных генотипов можно разделить на три группы: среднеранние (колошение после всходов через 40–42 дня), среднеспелые (43–46 дней), среднепоздние (47–51 день). В качестве исходного материала наиболее перспективными из среднеранней группы являются Д2098, Д2099 (НИИСХ Юго-Востока) и 1671 Каргала (Актюбинская СХОС), из среднепоздних – Горд 673, Горд 573 (Алтайский НИИСХ), 113/01-горд. (Карабалыкская СХОС), Дурум 49 (Казахский НПЦ ЗХ) и Горд.00-96-8 (Омский НИИСХ). Среди среднеранних сортов наибольший интерес представляет линия НИИСХ Юго-Востока Д2098. Ее скороспелость определяется коротким периодом «трубкование–колошение», что не оказывает заметного влияния на продуктивность колоса, по урожаю зерна она не уступает среднеспелому сорту Безенчукская 182. При включении в селекционные программы самого скороспелого сорта Краснокутка 13 необходимо учитывать ярко выраженную его особенность – быстрое развитие в период «всходы–трубкование», что в отдельные годы негативно отражается на продукционном процессе. Очевидно, что генотипы, имеющие период «всходы–колошение» короче 40 дней, быстро развиваются на всех этапах этого периода и в Среднем Поволжье не будут иметь распространения. В группу среднепоздних перспективных для селекции включены сорта, колосящиеся на 2–5 дней позднее Безенчукской Нивы и достаточно стабильные по этому признаку – разница по дате колошения по годам у них не превышает двух дней.

Условия среды в 2011–2012 гг. кроме отчетливого влияния на распределение сортов по продолжительности периода «всходы–колошение» способствовали проявлению генотипически обусловленной разнонаправленной реакции сортов на длительность периода при переходе от 2011 г. к 2012 г. Одни сорта значительно ускорили развитие, другие столь же значительно замедлили его; максимальная разница между такими вариантами – сортами Краснокутка 13 и Омский изумруд – по продолжительности периода «всходы–колошение» увеличилась в 2012 г. в сравнении с 2011 г. с 8 до 15 дней, т. е. практически в 2 раза. При этом переход от генотипов, ускоривших развитие в 2012 г. на 4,0 дня, к генотипам, замедлившим развитие на 4,0 дня, проходил плавно – с шагом в 0,5–1,0 день (табл. 3). Эффект противоположной реакции сортов на условия среды, видимо, обусловлен специфическими генотип-средовыми взаимодействиями. У некоторых сортов этот эффект был слабым или совсем отсутствовал. Значительная дифференциация вектора скорости развития генотипов может быть следствием температурных условий вегетации, степени доступности минеральных элементов питания (Климашевский, 1991) и особенностями ростовых процессов растений от всходов до трубкования (Мальчиков, 2009). Основной особенностью условий 2012 г., отличающей их от среднесредних показателей, является

значительное превышение среднесуточных температур в течение всего периода вегетации твердой пшеницы. Наиболее существенные отклонения наблюдались в период «всходы–трубкование». В связи с этим можно предположить наличие в системе «*per se*» у сортов с разной реакцией специфических «температурных генов», экспрессия которых значимо влияет на скорость развития растений. В группы сортов с нейтральной реакцией и ускорением сроков колошения на 2–4 дня вошли сорта из Поволжья (Краснокутская СОС, НИИСХ Юго-Востока, Самарский НИИСХ) и Актюбинской СХОС. В этих регионах ритм погоды не имеет определенных закономерностей в период вегетации яровых зерновых культур. Жара, суховеи могут чередоваться с обильными осадками и значительным снижением температуры, но в большинстве случаев летний период в той или иной степени засушливый (Корчагин, Горянин, 2005). Поэтому здесь сформировались сортовые биотипы с быстрым накоплением биомассы и ускоренным развитием до колошения.

В группу сортов, увеличивших на 2–4 дня продолжительность периода до колошения в 2012 г. в сравнении с 2011 г. вошли сорта Омского НИИСХ, Алтайского НИИСХ, Казахского НПЦ ЗХ (Шортанды), Карабалыкской СХОС. В этих регионах ритм погоды имеет определенную закономерность: засушливая весна с высокой частотой совпадает с обилием осадков в начале июля. В связи с этим здесь представителями одного из основных биотипов пшеницы являются сорта, задерживающие развитие в период «кущение–трубкование» (Евдокимов, 2006). Большинство сортов Самарской селекции, за исключением Безенчукской золотистой, имеют нейтральную реакцию и, видимо, «сбалансированы» по направленности ростовых процессов. Тем не менее вполне реально предположение о том, что в сортовой популяции твердой пшеницы в Среднем Поволжье и на Урале сорта сибирского типа могут занимать определенную нишу, особенно в восточных и северо-восточных районах Оренбургской и Челябинской областей, их распространение возможно в северных районах Самарской области, Пензенской и Ульяновской областях. Наряду с подбором и изучением исходного материала по вегетационному периоду, не менее важными моментами для успешной реализации селекционного проекта являются обоснование и эффективная реализация процедур отбора с учетом продуктивности селекционного материала.

При этом необходимо ориентироваться на элементы продуктивности, которые в большинстве ситуаций в Среднем Поволжье являются ведущими в системе причинно-следственных связей всего комплекса с урожаем зерна. Такими признаками являются элементы продуктивности колоса (число колосков в колосе, число зерен в колосе и колоске, масса 1000 зерен), морфофизиологические признаки (К.хоз. растения, К.хоз. колоса, длина соломины), признаки, характеризующие ценотические особенности сортов (число растений на единице площади перед уборкой, продуктивное кушение) (Мальчиков, Мясникова, 2012). Взаимосвязь этих групп признаков с периодом «всходы–колошение» на сортах различного происхождения (конкурсное испытание Самарского НИИСХ, экологический питомник, включавший сорта программы

Таблица 3. Продолжительность периода «всходы – колошение» (дни) сортов межстанционного сортоиспытания в зависимости от условий года. Безенчук, 2011, 2012 гг.

Сорт	Оригинатор	2011 г.	2012 г.	Отклонение 2012 г. от 2011 г., (+, -)	В среднем за 2011, 2012 гг.
Краснокутка 13	Краснокутская СОС	42,0	38,0	-4,0	40,0
1671 Каргала	Актюбинская СХОС	44,0	40,0	-4,0	42,0
653д-44	Самарский НИИСХ	44,0	41,0	-3,0	42,5
Д2099	НИИСХ Юго-Востока	43,0	40,0	-3,0	41,5
Безенчукская 205	Самарский НИИСХ	44,0	42,0	-2,0	43,0
Д2098	НИИСХ Юго-Востока	42,0	40,0	-2,0	41,0
Луч 25	НИИСХ Юго-Востока	44,0	42,0	-2,0	43,0
48с-08	НИИСХ Юго-Востока	45,5	43,0	-1,5	44,8
Дурум 2	Казахский НПЦ ЗХ	45,0	43,5	-1,5	44,3
1538 Каргала	Актюбинская СХОС	46,0	45,0	-1,0	45,5
1539Каргала	Актюбинская СХОС	46,0	45,0	-1,0	45,5
Линия 18485-2	Казахский НПЦ ЗиР	44,0	43,0	-1,0	43,5
Безенчукская 182	Самарский НИИСХ	45,0	44,0	-1,0	44,5
Безенчукская степная	Самарский НИИСХ	44,0	43,0	-1,0	43,5
101с-08	НИИСХ Юго-Востока	45,0	44,0	-1,0	44,5
Безенчукская 210	Самарский НИИСХ	46,0	45,5	-0,5	45,8
Безенчукская Нива	Самарский НИИСХ	45,0	45,0	0,0	45,0
Линия 17404	Казахский НПЦ ЗиР	49,0	49,0	0,0	49,0
86с-08	НИИСХ Юго-Востока	45,0	45,0	0,0	45,0
98с-08	НИИСХ Юго-Востока	45,5	46,0	+0,5	45,8
Гордеиформе 673	Алтайский НИИСХ	47,0	48,0	+1,0	47,5
113/01-горд	Карабалыкская СХОС	48,0	49,0	+1,0	48,5
Горд 573	Алтайский НИИСХ	47,0	48,0	+1,0	47,5
Дурум -49	Казахский НПЦ ЗХ	47,0	49,0	+2,0	48,0
Горд.00-96-8	Омский НИИСХ	49,0	51,0	+2,0	50,0
Корона	Казахский НПЦ ЗХ	45,0	48,0	+3,0	46,5
Омский Изумруд	Омский НИИСХ	50,0	53,0	+3,0	51,5
265/01-1 горд.	Карабалыкская СХОС	48,0	51,0	+3,0	49,5
Горд.98-42-5	Омский НИИСХ	45,0	48,5	+3,5	46,8
Горд.616	Алтайский НИИСХ	49,0	53,0	+4,0	51,0
Горд.677	Алтайский НИИСХ	47,0	51,0	+4,0	49,0
НСР _{0,05}		1,2	1,4	-	3,3

«КАСИБ», набор современных итальянских сортов) изучена с применением статистического метода многомерного анализа (Харман, 1972). Выделены гипотетические системы, сформированные совокупностью признаков, связанных с периодом «всходы – колошение» (табл. 4). При изучении сортов конкурсного сортоиспытания наиболее часто, по 3 случая из 8, в одну систему признаков с периодом «всходы – колошение» входили «число колосков в колосе», «число растений к уборке» и «масса 1000 зерен». Средняя частота, по 2 случая из 8, наблюдалась для «числа зерен в колоске» и «К.хоз. колоса», слабая –

по 1 случаю из 8, для «продуктивного кущения», «числа зерен в колосе», «К.хоз. растения» и «длины соломины». Признаков, стабильно входивших в одну систему с периодом «всходы – колошение», не выявлено. Теоретически такая связь возможна у признака «число колосков в колосе», но, видимо, формирование сортовых различий по этому признаку, так же как и для большинства количественных признаков, зависит от эффектов генотип-средовых взаимодействий, которые могут нивелировать влияние длительности периода формирования признака на его величину. Закономерного влияния условий среды

Таблица 4. Результаты факторного анализа совокупности признаков, связанных с периодом «всходы – колошение», 2004–2012 гг.

Год, питомник	Гипотетическая система в связи с периодом «всходы – колошение»	Признаки, коррелировавшие с гипотетическим фактором	Фактор. нагрузки	Значим. системы, %	Кол-во систем
2004, КСИ	Морфогенез колоса	КДК ЧКК	0,50 0,72	17,8	3
2005, КСИ	Масса зерновки	КДК Масса 1000 зерен	0,84 –0,89	26,9	3
2007, КСИ	Формирование ценоза	КДК ЧР на 1 м ² ПК	–0,79 –0,82 0,53	17,9	3
2008, КСИ	Морфогенез, озерненность колоса и распределение его биомассы между зерном и мякиной	КДК ЧЗК ЧКК ЧЗКК К.хоз. колоса	–0,72 –0,90 –0,87 –0,78 –0,66	34,5	3
2009, КСИ	Распределение биомассы между зерном и вегетативной сферой, сохранность растений к уборке	КДК К.хоз. растения К.хоз. колоса ЧЗКК ЧР на 1 м ²	0,75 –0,95 –0,92 –0,78 –0,54	41,7	3
2010, КСИ	Морфогенез колоса	КДК ЧКК	0,95 0,87	20,4	3
2011, КСИ	Сохранность растений к сроку уборки и масса зерновки	КДК Масса 1000 зерен ЧР на 1 м ²	0,58 –0,83 –0,50	22,1	3
2012, КСИ	Масса зерновки и высота растений	КДК Масса 1000 зерен Длина соломины	–0,65 –0,88 –0,71	20,7	3
2011, КАСИБ	Масса зерновки	КДК Масса 1000 зерен	–0,77 –0,69	26,3	3
2012, КАСИБ	Морфогенез колоса, высота растений, формирование продуктивных боковых побегов	КДК Длина соломины ЧКК ПК	–0,72 –0,85 –0,81 –0,58	26,4	3
2012, сорта Италии	Озерненность колоса и колоска	КДК ЧЗК ЧЗКК	–0,68 –0,89 –0,71	18,0	3

КСИ – конкурсное испытание сортов Самарского НИИСХ; КАСИБ – сорта казахстанско-сибирской программы селекции пшеницы; КДК – количество дней от всходов до колошения; ЧКК – число колосков в колосе; ЧР на 1 м² – число растений на 1 м²; ПК – коэффициент продуктивного кущения; ЧЗК – число зерен в колосе; ЧЗКК – число зерен в колоске; К.хоз. – выход зерна из биомассы растения, колоса.

на формирование гипотетических факторов, связанных с периодом «всходы – колошение» также не обнаружено. Например, признак «число растений на 1 м²» или «выживаемость растений к уборке», связан с исследуемым признаком в годы с сильной летней засухой (2004 г.), весенне-летней засухой на фоне умеренных температур воздуха (2009 г.) и в год с очень благоприятным фоном температуры и осадков до начала налива (2011 г.). Эти результаты объясняются высоким уровнем общей адаптивности исследуемого набора генотипов конкурсного испытания и оптимальным уровнем изменчивости исследуемого признака, что позволяет формировать в зависимости от условий разнообразие системы с различным составом признаков структуры урожая. Отметим слабую взаимосвязь периода «всходы – колошение» с «К.хоз. растения» и среднюю – с «К.хоз. колоса», что необходимо

учитывать при отборе родительских компонентов для гибридизации.

Сравнение состава признаков в системах, полученных в блоках конкурсного сортоиспытания и «КАСИБ» за аналогичные годы, показывает практическое их совпадение в относительно благоприятном 2011 г., когда период «всходы – колошение» был тесно связан с массой 1000 зерен в обоих экспериментах, и значительное расхождение в 2012 г. Это объясняется наличием очень больших различий в этих опытах между крайними значениями периода «всходы – колошение» – в блоке «КАСИБ» они в 3 раза больше, чем в конкурсном испытании. В блоке «КАСИБ» формирование различий по числу колосков в колосе, продуктивному кущению, длине соломины и их распределению по факторным группам значительно сильнее определялось продолжительностью

Таблица 5. Характеристика селекционного материала с широкой изменчивостью периода «всходы–колошение», конкурсное испытание, 2012–2014 гг.

Сорт	КДК	Урожай, т/га	Устойчивость к:				лиственным пятнистостям, тип устойчивости по шкале R, MR, MS, S	засухе, 1–9 баллов	полеганию, 1–9 баллов	Высота растений
			<i>Puccinia recondita</i> , тип/%	<i>Blumeria graminis</i> , тип/%						
Б182	44,4	1,66	2/3	4/7	MS	6,0	7,7	BP		
БС	43,0	1,72	2/5	4/10	MR	7,0	7,8	BP		
Б205	41,6	1,68	2/3	0/0	MR	7,0	9,0	CP		
1368д-18	41,5	1,82	2/3	0/0	R	7,5	9,0	CP		
1389да-1	49,8	1,95	0/0	0/0	R	7,0	9,0	BP		
1477д-4	50,5	2,04	0/0	0/0	R	7,0	9,0	CP		
1594д-3	46,7	2,06	2/3	4/5	R	7,5	8,9	BP		
НСР _{0,05}	1,3	0,21	–	–	–	–	1,0	–		

КДК – количество дней до колошения; Б – Безенчукская; С – степная; 1368д-18 ... 1594д-3 – нумерация селекционных линий; BP – высокорослый; CP – среднерослый; R – resistance; S – sensitive; M – mean; Б182, БС и Б205 – сорта-стандарты, включенные в Реестр селекционных достижений РФ.

периода «всходы–колошение». Ведущую роль периода «всходы–колошение» в процессах формирования боковых побегов и числа колосков в колосе необходимо учитывать при работе с селекционным материалом, полученным на основе изученных сортов в годы с аналогичной реакцией на условия среды, контролируемого при отборе признака. В блоке изучения итальянских сортов озерненность колоса и колоска образовали одну систему с периодом «всходы–колошение», что объясняется хронологическим совпадением благоприятных условий среды (температура, влажность воздуха и почвы) и периода «цветение–формирование зерна» поздних сортов. Очевидно, что при работе с неадаптированным исходным материалом отбор по озерненности колоса необходимо сопоставлять с динамикой погодных условий и параметрами вегетационного периода.

Таким образом, период «всходы–колошение» в зависимости от условий среды, генотипического состава популяции может оказывать разнообразное влияние на формирование основных элементов структуры урожайности. Это позволяет вести комбинационную селекцию в достаточно широком диапазоне изменчивости. Тем не менее при селекции скороспелых сортов необходимо учитывать неизбежные потери потенциала продуктивности при формировании колоса и реализации его возможностей в период налива зерна. Безусловно, среднеспелые сорта имеют оптимальную структуру периода «всходы–колошение», наилучшим образом соответствующую ритму погодных условий Среднего Поволжья. Создавая сорта, значительно отклоняющиеся от параметров среднеспелого биотипа, селекционер сознательно ослабляет уровень стабильности их урожаев в обмен на усиление специфической адаптивной способности, необходимой для формирования эффективной системы сортов в регионе.

Селекция среднепоздних сортов, колосающихся на 5–6 дней позднее Безенчукской 182 должна вестись с учетом особенностей их фотосинтетической деятельности. Необходимо, прежде всего, акцентировать внимание на

показателях К.хоз. и Ф.ч.пр. Перспективны изменения комплекса признаков, включающих «редукцию высоты растений», «повышение К.хоз.», «усиление корневой системы», «повышение жаростойкости в период налива зерна», «устойчивости к листовым болезням и полеганию». Подтверждением адекватности некоторых из них являются реализованные в процессе селекции в период 2001–2012 гг. сорта: Безенчукская 209 (несет *RhtB1* – ген, снижающий высоту растений на 40,0%), включенный в реестр РФ по Средневолжскому региону; Безенчукская 210 и Безенчукская золотистая (несут *RhtAhn* – ген, снижающий высоту растений на 15,0%), признанные перспективными в Нижневолжском, Средневолжском и Уральском регионах РФ. Эти сорта предназначены для зон с неустойчивым увлажнением и в целом засушливым климатом. Безенчукская 209 и Безенчукская 210 относятся к среднепозднему морфотипу, Безенчукская золотистая – ближе к среднераннему морфотипу. Селекция на увеличение различий по продолжительности вегетации в сортовой популяции твердой пшеницы в Среднем Поволжье, проведенная в последние 12 лет, была вполне успешной (табл. 5).

Новый селекционный материал имеет значительную дифференциацию по продолжительности вегетации. Разница между крайними вариантами по дате колошения в среднем за 3 года составила 9 дней. В целом новые селекционные линии продуктивнее, более устойчивы к листовым болезням (особенно пятнистостям), полеганию, чем среднеранний (Б205) и среднеспелые (Б182, БС) стандарты, ряд линий имеют среднерослый стебель. Эти особенности позволяют генотипам, выходящим за пределы оптимальных для Среднего Поволжья значений вегетационного периода, в отдельные годы с высокой эффективностью использовать ресурсы среды. Созданный исходный материал является основой формируемой системы сортов твердой пшеницы в Среднем Поволжье с высоким уровнем дифференциации длительности вегетационного периода с эффектом повышения уровня и стабильности урожайности твердой пшеницы в регионе.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2012.
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1985.
- Евдокимов М.Г. Селекция яровой твердой пшеницы в условиях юга Западной Сибири: Автореф. дис. ... д-ра. с.-х. наук. Омск, 2006.
- Евтушенко Е.В., Чекуров В.М. Генетическое разнообразие по реакции на интенсивность света у сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Генетика. 2000;36(5):666-672.
- Климашевский Э.Л. Генетический аспект минерального питания растений. М.: Агропромиздат, 1991.
- Коваль С.Ф. Генетические факторы, влияющие на архитектуру посева и продуктивность мягкой яровой пшеницы. Аграрная Россия. 2002;(1):18-25.
- Корчагин В.А., Горянин О.И. Основные тенденции изменения агрометеорологических показателей погодных условий в Среднем Заволжье за последние 100 лет (1904–2004 годы). Самара, 2005.
- Кузьмин В.П. Селекция зерновых культур в Казахстане. Селекция и семеноводство. 1967;(4):12-16.
- Кумаков В.А., Игошин А.П., Синяк В.М., Чернов В.К., Андреева А.Ф. Методические указания по определению некоторых физиологических показателей растений пшеницы при сортоизучении. М., 1982.
- Куперман Ф.М., Меремкулова Р.Н., Муратов В.В., Быкова М.С. Особенности морфогенеза и формирование потенциальной и реальной продуктивности пшеницы. Физиолого-генетические основы повышения продуктивности зерновых культур. М.: Колос, 1975 :45-53.
- Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г. Относительное развитие признаков продуктивности твердой пшеницы в процессе селекции. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16(4):987-997.
- Мальчиков П.Н.. Селекция яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье: Дис. д-ра с.-х. наук. Безенчук, 2009.
- Ничипорович А.А., Строгонова Л.Е., Чмора С.Н., Власова М.П. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах (методы и задачи учетов в связи с формированием урожая). М.: Изд-во АН СССР, 1961.
- Романенко А.А., Беспалова Л.А., Кудряшов И.Н., Аблова И.Б. Новая сортовая политика и сортовая агротехника озимой пшеницы. Краснодар, 2005.
- Стельмах А.Ф. Генетические эффекты локусов Vrn 1-3 и специфическое действие доминантного Vrn 3 аллеля у мягкой пшеницы. Цитология и генетика. 1987;24(4):278-286.
- Фляксбергер К.А. Пшеницы. М.; Л., 1935.
- Харман Г. Современный факторный анализ. М.: Статистика, 1972.
- Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 1974;14(6):415-421.

Изменчивость высоты растений гибридных форм яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) как способ их адаптации в различных эколого-географических условиях

Е.И. Рипбергер¹, Н.А. Боме¹, Д. Траутц²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

² Университет прикладных наук города Оснабрюк, Оснабрюк, Германия

Представлены результаты двух летних исследований (2013–2014 гг.) гибридных форм (F_4 , F_5) мягкой яровой пшеницы по изменчивости высоты растений в трех географических пунктах, находящихся в России (Тюменская область) и Германии (земля Баден-Вюртемберг, земля Нижняя Саксония) и значительно различающихся по почвенно-климатическим условиям. Дана характеристика территорий исследования по тепло- и влагообеспеченности в период вегетации растений яровой пшеницы. На основе гидротермического коэффициента Г.Т. Селянинова (ГТК) выявлены различия между пунктами по степени увлажненности и засушливости в течение двух вегетационных сезонов (2013–2014 гг.). Показано, что реакция гибридов на меняющиеся факторы окружающей среды по признаку «высота растений» была неоднозначной. Среди проходивших испытание гибридных форм преобладала средняя степень изменчивости ($CV = 11–25\%$) данного признака. Выявлены гибридные комбинации, характеризовавшиеся наибольшим размахом варьирования длины главного побега. Морфотип гибридов был представлен низко- и среднерослыми растениями. Установлено, что в условиях достаточного увлажнения гибриды формировали более высокие растения. С использованием трехфакторного дисперсионного анализа определен вклад основных факторов (пункт, год, генотип) в формирование высоты растений. Отмечена значительная доля влияния экологических условий каждого пункта в общей фенотипической изменчивости изучаемого признака. Выделены гибридные формы (♀Hybrid × ♂Лютеценс 70 и ♀Cara × ♂Скэнт 3) с менее выраженными различиями по высоте растений и высокой устойчивостью к полеганию. Высота растений рассматривается как один из показателей, характеризующий экологическую пластичность генотипов в контрастных почвенно-климатических условиях.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; высота растений; экологические факторы.

Variability of the height of plants of hybrid forms of spring common wheat (*Triticum aestivum* L.) under different ecological and geographical conditions

E.I. Ripberger¹, N.A. Bome¹, D. Trautz²

¹ Tyumen State University, Tyumen, Russia

² University of Osnabrueck, Osnabrueck, Germany

The results of two-year research (2013–2014) of the variability of plant height in spring common wheat hybrid forms (F_4 , F_5) in three geographical localities, including Russia (Tyumen region) and Germany (Baden-Württemberg and Lower Saxony), which differ considerably in soil and climatic conditions, are presented. These three localities also differ in temperature and availability of water during the growing seasons of spring wheat. Differences between the geographical points in water supply and aridity during two growing seasons (2013–2014) were assessed on the basis of G.T. Selyaninov's hydrothermal coefficient (HTS). The height of plants of different hybrids showed different responses to differences in environmental factors. Hybrids demonstrated a moderate degree of height variability ($CV = 11–25\%$). Hybrid forms characterized by the largest range in plant height within a locality were identified. The morphotypes of the hybrids were presented by undersized and moderately sized plants. It was found that hybrids formed higher plants under conditions of sufficient moisture. The contributions of the major factors (point, year, a genotype) to the formation of the height of plants were investigated by three-way analysis of variance. The results of this analysis demonstrated that the environmental conditions were responsible for the largest proportion of the explained variation of the variable under study (plant height). Two hybrid forms (♀Hybrid × ♂Lutescens 70 and ♀Cara × ♂Skent 3) with the least expressed variation in plant height and the highest lodging resistance were identified. Height of plants is considered one of the indicators characterizing



the environmental plasticity of genotypes under different soil and climatic conditions.

Key words: *Triticum aestivum* L.; plant height; environmental factors.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Рипбергер Е.И., Боме Н.А., Траутц Д. Изменчивость высоты растений гибридных форм яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) как способ их адаптации в различных эколого-географических условиях. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):185–190. DOI 10.18699/VJ15.023

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Ripberger E.I., Bome N.A., Trautz D. Variability of the height of plants of hybrid forms of spring common wheat (*Triticum aestivum* L.) under different ecological and geographical conditions. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):185–190. DOI 10.18699/VJ15.023

Изучение реакции культурных растений на различное сочетание и действие экологических факторов приобретает все больший интерес у исследователей-селекционеров. Это объясняется возможностью оценить адаптивный потенциал и отобрать генотипы по комплексу селекционно-ценных признаков для определенных эколого-географических условий. Особое внимание испытанию генотипов в различных средах уделено в работах А.В. Кильчевского и Л.В. Хотылевой (1989, 1997), в которых отмечено, что в основе адаптивной селекции лежит взаимодействие генотипа и среды. В условиях глобального изменения климата и его региональном проявлении остается актуальной проблема создания, изучения и выделения генетического материала, обладающего высокой экологической пластичностью и стабильностью проявления признаков, влияющих прямо или косвенно на продуктивность культурных растений в агроценозах (Жученко, 2001; Корзун, Бруйло, 2011; Ермакова и др., 2013). Цель нашего исследования – изучение экологической изменчивости гибридных (F_4 , F_5) форм мягкой яровой пшеницы по признаку «высота растений» в различных эколого-географических условиях.

Материалы и методы

Объектами исследования послужили четыре гибридные комбинации (F_4 , F_5) мягкой яровой пшеницы: ♀Сага × ♂Скэнт 1, ♀Сага × ♂Лютеценс 70, ♀Hybrid × ♂Лютеценс 70 и ♀Сага × ♂Скэнт 3. Гибридные формы получены нами в 2009 г. методом гибридизации с использованием неполных диаллельных скрещиваний. Гибридизация включала в себя: кастрацию колоса материнского растения, изоляцию колоса и опыление пыльцой отцовского растения с последующей изоляцией (Дорофеев и др., 1990). В течение трех вегетационных периодов (2010–2012 гг.) гибриды прошли полевое испытание и отбор по селекционно-ценным признакам в сравнении с исходными сортами на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» Тюменского государственного университета.

Экологическое испытание проводилось в 2013–2014 гг. в рамках международного проекта SASCHA (sustainable land management and adaptation strategies to climate change for the Western Siberian corn-belt), направленного на разработку стратегий адаптации сельскохозяйственной зоны Западной Сибири к изменениям климата в сочетании с быстрым социально-экономическим развитием.

Испытание генотипов проводили в трех географических пунктах: Россия, Тюменская область, г. Тюмень, Нижнетавдинский район, биостанция «Озеро Кучак» Тюменского государственного университета ($57^{\circ}20'56.36''$ с.ш., $66^{\circ}03'23.87''$ в.д.); Германия, земля Баден-Вюртемберг, г. Швебиш-Гмюнд, экспериментальный участок Вальдорфской школы ($48^{\circ}47'16.94''$ с.ш., $9^{\circ}49'20.89''$ в.д.); Германия, земля Нижняя Саксония, г. Оснабрюк, опытная станция Института прикладных наук «Waldhof» ($52^{\circ}19'21.74''$ с.ш., $8^{\circ}2'21.96''$ в.д.). При испытании гибридных форм в качестве стандартов использовались сорта мягкой яровой пшеницы, рекомендованные для выращивания в каждой эколого-географической зоне: Россия, Тюменская область – Новосибирская 15, Иргина; Германия, Баден-Вюртемберг – Aschby, Scirocco; Германия, Нижняя Саксония – Eminent, Granus. Пункты исследований существенно различались по географическому расположению, климатическим и эдафическим условиям (табл. 1).

Закладку опытов, учеты и наблюдения во всех пунктах исследования проводили по единой методике, составленной с использованием методических указаний Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Градчанинова, 1987) и Б.А. Доспехова (1985). Измерение высоты растений во всех пунктах испытания выполняли в фазу колошения пшеницы.

Источник характеристики метеорологических условий – официальные сайты и метеостанция, расположенная в непосредственной близости от опытного участка «Waldhof» (Погода и климат; Proplanta. Das Informationszentrum für die Landwirtschaft; Umweltanalytische Produkte GmbH). Для оценки степени увлажненности и засушливости вегетационного периода рассчитывали гидротермический коэффициент (ГТК) Г.Т. Селянинова со следующей шкалой классификации условий увлажнения территории: ГТК > 1,6 – избыточное увлажнение; ГТК = 1,6–1,3 – влажность; ГТК = 1,3–1,0 – слабая засушливость; ГТК = 1,0–0,7 – засушливость; ГТК = 0,7–0,4 – высокая засушливость; ГТК < 0,4 – засуха (Белов, Смирнова, 2006; Методы оценки ..., 2012). Пункты испытаний отличались по гидротермическому режиму в годы исследований.

Рост и развитие растений пшеницы на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» проходили в слабо засушливых условиях вегетационных периодов 2013 и 2014 гг., что подтверждается значениями гидротермического коэффициента: 1,19 и 1,23. Сумма активных

Таблица 1. Особенности почвенно-климатических условий пунктов исследований

Признаки	Биостанция «Озеро Кучак»	Экспериментальный участок Вальдорфской школы	Опытная станция «Waldhof»
Удаленность от Тюмени, км	50,00	4 480,23	4 315,38
Высота над уровнем моря, м	61	348	105
Тип климата	Резко континентальный	Умеренный морской	Умеренный морской
Среднегодовая температура воздуха, °С	0,3	8,1	8,6
Среднегодовое кол-во осадков, мм	457	980	746
Тип почвы	Дерново-подзолистая, супесчаная	Темно-серая лесная, тяжелосуглинистая	Темно-серая лесная, легкосуглинистая
Кислотность почвы, ед.	6,6	7,0	7,0
Гумус, %	3,67	4,00	4,00
Содержание макро- и микроэлементов в почве, мг/кг			
нитратный азот	18,80	4,22	11,30
подвижный фосфор	433,30	565,00	1 130,00
Ca	3 362,33	3 100,00	1 630,00
Mg	1 125,37	315,00	62,20
Fe	3 553,51	3 010,00	1 140,00
Cu	55,41	6,51	8,64
Zn	402,52	12,70	17,30

температур выше 10 °С за этот период составила в 2013 г. – 1847,0 °С, в 2014 г. – 1602,0 °С.

Условия вегетации растений в Германии характеризовались избыточным увлажнением на экспериментальном участке Вальдорфской школы в оба года исследований (в 2013 г. ГТК = 2,31; 2014 г. – 2,69) и на опытной станции «Waldhof» в 2014 г.: ГТК = 2,02. Недостаток атмосферной и почвенной влаги отмечался в 2013 г. на опытной станции «Waldhof» (коэффициент естественной влагообеспеченности территории – 0,64). Сумма активных температур выше 10 °С в 2013 и 2014 гг. составила на экспериментальном участке Вальдорфской школы 1985,9 °С и 1781,6 °С, на опытной станции «Waldhof» 1594,2 °С и 1761,4 °С соответственно. Существенное превышение значения данного показателя для нормального роста и развития яровой пшеницы отмечено в вегетационный период 2013 г. на экспериментальных участках биостанции «Озеро Кучак» и Вальдорфской школы – 97,0 °С и 235,9 °С соответственно (сумма активных температур выше 10 °С за период «всходы – созревание» для растений яровой пшеницы, по К.А. Фляксбергеру (1938), в пределах от 1500,0 °С до 1750,0 °С).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием табличного процессора Microsoft Excel (Matthdus, Schulze, 2011). О модификационной изменчивости признака «высота растений» пшеницы судили по коэффициенту вариации (CV, %), при этом использовали группы распределения по Г.Ф. Лакину (1990): < 10 % – слабая; 11–25 % – средняя; > 25 % – сильная. Построение диаграмм размаха и трехфакторный дисперсионный анализ проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0 (StatSoft) (Вуколов, 2008; Field et al., 2012).

Результаты и обсуждение

Растения на протяжении вегетационного периода находятся под воздействием и в зависимости от комплекса факторов, положительное либо отрицательное влияние которых, а также реакцию генотипа на отличающиеся условия среды можно выяснить по изменчивости морфологических признаков. В нашем испытании анализ изменчивости признака «высота растений» гибридных (F₄, F₅) форм проведен в трех различных эколого-географических пунктах.

В работах многих авторов (Ведров, 1984; Лихенко, 2004; Шаманин, Трущенко, 2006; Varesel, 2006; Asquaah, 2007; Яковский, 2010) отмечено, что для каждой эколого-географической зоны характерен свой оптимальный экотип высоты растений пшеницы.

В.В. Шелепов с соавт. (2009) подчеркивают, что признак «длина соломины» контролируется у пшеницы сложной системой генов и факторами внешней среды.

В.И. Возиян с соавт. (2014) по результатам испытания 17 сортов озимой пшеницы в течение трех лет в Республике Молдова утверждают, что оценка адаптивных способностей пшеницы по высоте растений является более точной при учете зависимости данного показателя от гидротермических условий и других биотических и абиотических факторов среды.

На длину соломины, по мнению А.И. Носатовского (1950), влияют температура, интенсивность и продолжительность дневного освещения во время формирования междоузлий. Наибольший прирост отмечен при среднесуточной температуре воздуха 24–25 °С, благоприятной для формирования невысоких растений, устойчивых к полеганию. Считается, что среднесуточная температура воздуха составляет от 12 до 16 °С (Носатовский, 1950).

Таблица 2. Высота растений гибридных (F_4 , F_5) форм мягкой яровой пшеницы в трех эколого-географических пунктах исследований, $X \pm Sx$, см

Образец	Биостанция «Озеро Кучак»		Экспериментальный участок Вальдорфской школы		Опытная станция «Waldhof»	
	2013 г.	2014 г.	2013 г.	2014 г.	2013 г.	2014 г.
♀ Cara × ♂ Скэнт 1	41,2 ± 1,7	62,8 ± 2,2	70,0 ± 4,5	96,1 ± 2,2	89,3 ± 1,2	100,7 ± 2,4
♀ Cara × ♂ Лютесценс 70	39,8 ± 1,4	62,4 ± 2,2	61,2 ± 10,7	82,9 ± 2,2	87,5 ± 2,9	95,8 ± 4,6
♀ Hybrid × ♂ Лютесценс 70	48,5 ± 1,5	67,4 ± 2,1	82,5 ± 5,9	85,9 ± 7,3	98,5 ± 3,8	86,4 ± 5,6
♀ Cara × ♂ Скэнт 3	49,4 ± 1,3	62,9 ± 2,0	72,2 ± 3,1	86,3 ± 2,9	93,5 ± 2,7	80,7 ± 4,6

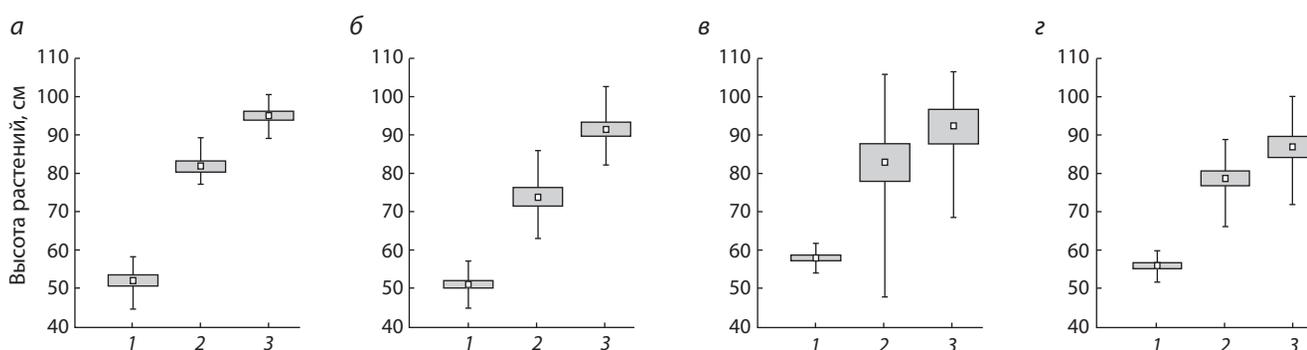


Рис. 1. Изменчивость высоты растений гибридных (F_4 , F_5) форм мягкой яровой пшеницы в трех эколого-географических пунктах исследований, 2013–2014 гг. (результаты получены с помощью теста Тьюки).

Пункты исследований: 1 – биостанция «Озеро Кучак»; 2 – экспериментальный участок Вальдорфской школы; 3 – опытная станция «Waldhof»; а – ♀ Cara × ♂ Скэнт 1; б – ♀ Cara × ♂ Лютесценс 70; в – ♀ Hybrid × ♂ Лютесценс 70; з – ♀ Cara × ♂ Скэнт 3.

Сравнительный анализ и обобщение данных по высоте растений гибридных форм яровой пшеницы в различных экологических условиях (биостанция «Озеро Кучак», экспериментальный участок Вальдорфской школы и опытная станция «Waldhof») в течение двух лет испытаний (2013–2014 гг.) позволили выявить неоднозначную реакцию генотипов на факторы окружающей среды по фенотипическому проявлению признака (табл. 2).

При распределении гибридных комбинаций в соответствии с «Международным классификатором СЭВ рода *Triticum* L.» (1984) на группы выяснилось, что на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» растения всех гибридов были низкорослыми (51–65 см). На экспериментальном участке Вальдорфской школы растения 50 % гибридов ♀ Cara × ♂ Лютесценс 70 и ♀ Cara × ♂ Скэнт 3 отнесены к переходной группе от низкорослых до среднерослых (66–80 см); среднерослыми (81–95 см) были гибриды ♀ Cara × ♂ Скэнт 1 и ♀ Hybrid × ♂ Лютесценс 70, составившие также 50 %. Все гибридные комбинации на опытной станции «Waldhof» характеризовались средней (81–95 см) высотой. Такое распределение может указывать на особенности исследуемых генотипов и их реакцию на различные условия среды.

На основе результатов, полученных с помощью теста Тьюки (рис. 1), было выявлено, что растения изученных гибридов в условиях Западной Сибири в среднем на 30 см были ниже по сравнению с растениями тех же гибридов в Германии. В среднем за два года (2013–2014 гг.)

на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» гибриды имели высоту растений 54,3 см и слабую изменчивость признака ($CV = 10,29\%$). На экспериментальном участке Вальдорфской школы и опытном участке «Waldhof» изучаемый признак и его вариабельность были выше – 79,6 см ($CV = 15,43\%$) и 91,6 см ($CV = 12,19\%$) соответственно.

Норма реакции гибридных форм на различающиеся условия среды по признаку «высота растений» была не одинакова. Наибольший размах варьирования был отмечен у гибридной комбинации ♀ Hybrid × ♂ Лютесценс 70 на экспериментальном участке Вальдорфской школы (60,1 см) и опытном участке «Waldhof» (42,5 см). Гибридная комбинация ♀ Cara × ♂ Скэнт 1 характеризовалась самым низким размахом варьирования в Германии (15,6 см – на экспериментальном участке Вальдорфской школы и 19,0 см – на опытном участке «Waldhof») и самым высоким – на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» – 19,5 см (рис. 1). Широкий размах варьирования признака «высота растений» у гибридных комбинаций в различных условиях испытания, вероятно, связан с разнообразием экологических факторов географических пунктов и адаптивными механизмами гибридных форм.

А.С. Северцов (1987) выделил два способа приспособления популяции к разнообразию экологических факторов и колебаниям условий среды: генетический и фенотипический полиморфизм. Первый характеризуется

узкой нормой реакции, а второй – широкой. Под нормой реакции понимались уже сложившиеся пределы адаптивного реагирования генотипа.

Анализ средних за два года исследований значений гидротермического коэффициента Г.Т. Селянинова по географическим пунктам в период от посева до колошения растений гибридных (F_4, F_5) форм показал, что условия экспериментального участка биостанции «Озеро Кучак» характеризовались как слабо засушливые (ГТК = 1,13). В Германии на экспериментальном участке Вальдорфской школы (ГТК = 2,09) и опытной станции «Waldhof» (ГТК = 1,82) данные показатели были близки, условия характеризовались избыточным увлажнением. Изученные гибриды при достаточном увлажнении в эколого-географических пунктах Германии формировали более высокие растения, чем в слабо засушливых условиях на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак». Даже высокое содержание нитратного азота (18,80 мг/кг) в почвах экспериментального участка, расположенного в Тюменской области, не компенсировало недостатка влаги по сравнению с опытными станциями в Германии. Вероятно, наиболее благоприятными для роста и развития растений являются условия с оптимальным сочетанием экологических факторов.

Существенные различия гибридных форм по высоте растений в Германии и Западной Сибири могут быть вызваны контрастностью почвенных и метеорологических факторов, а также особенностями географического расположения.

Сравнение гибридных форм по данному признаку в вегетационные периоды 2013 и 2014 гг. показало, что в условиях 2014 г. растения характеризовались как более высокорослые; изменчивость признака была средней ($CV_{2013} = 12,44\%$ и $CV_{2014} = 13,06\%$) (рис. 2).

Различий по высоте растений в среднем за два года в пунктах изучения не обнаружено у гибридных форм ♀Hybrid × ♂Лютеценс 70 и ♀Сага × ♂Скэнт 3. Наиболее существенные отличия установлены для гибридов ♀Сага × ♂Скэнт 1 и ♀Сага × ♂Лютеценс 70 (рис. 2).

Проведение трехфакторного дисперсионного анализа позволило нам судить об изменчивости высоты растений и выделить долю вклада основных факторов, оказывающих воздействие на формирование данного признака.

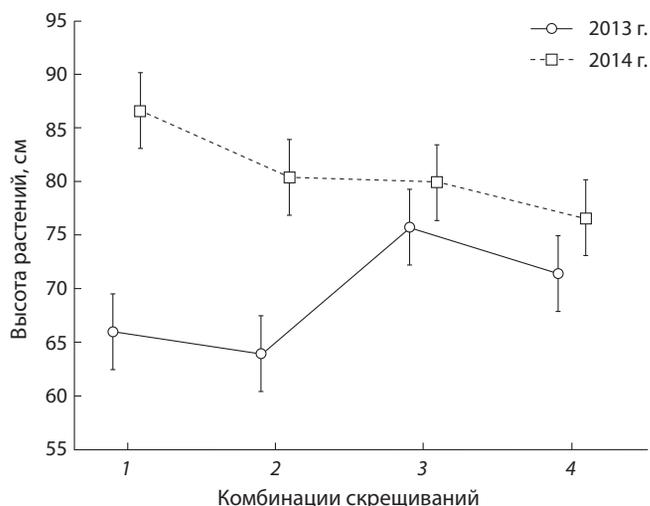


Рис. 2. Изменчивость высоты растений в зависимости от условий вегетационного периода и генотипа, 2013–2014 гг.

Год × генотип (взаимодействие факторов «год» и «генотип»). $F(3, 216) = 10,154$; $p = 0,00000$. Представлен 0,95 доверительный интервал.
F – критерий Фишера; 1 – ♀ Сага × ♂ Скэнт 1; 2 – ♀ Сага × ♂ Лютеценс 70; 3 – ♀ Hybrid × ♂ Лютеценс 70; 4 – ♀ Сага × ♂ Скэнт 3.

Влияние экологических факторов (пункт), метеорологических условий (годы), а также взаимодействия «год × пункт», «год × генотип» на варьирование признака «длина соломины» высоко достоверно ($p < 0,001$). Действие генотипических различий достоверно на 5 %-м уровне значимости ($p < 0,05$). Зависимость изменчивости высоты растений от взаимодействий факторов: «пункт × генотип» и «год × пункт × генотип» статистически не доказана ($F_{факт.} < F_{теор.}$) (табл. 3).

Отмечены значительные различия факторов по силе влияния. Прежде всего, изменчивость высоты растений была обусловлена особенностями экологических характеристик пунктов исследований (58,70 %). Существенным оказалось влияние случайного фактора – 27,54 %. Значительно меньше доля изменчивости в общем фенотипическом варьировании рассматриваемого признака была связана с условиями вегетации (2013 и 2014 гг.) – 8,19 %, а также взаимодействием данного фактора с «пунктом»

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа по высоте растений

Источник варьирования	Степень свободы, df	Средний квадрат, mS	Критерий Фишера ($F_{факт.}$)
Фактор А (генотип)	3	365	3,72*
Фактор В (пункт)	2	28870	294,27**
Фактор С (год)	1	8052	82,07**
Взаимодействие А × В	6	194	1,97
Взаимодействие А × С	3	996	10,15**
Взаимодействие В × С	2	2489	25,37**
Взаимодействие А × В × С	6	192	1,96
Случайный фактор	216	98	–

Варианса достоверна при: * $p < 0,05$ и ** $p < 0,001$.

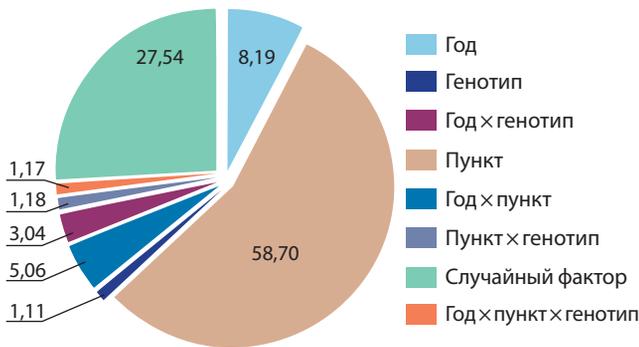


Рис. 3. Доля влияния факторов на изменчивость высоты растений гибридных (F_4 , F_5) форм, % (2013–2014 гг.).

(5,06 %) и «генотипом» (3,04 %). Наименьшее влияние оказывали генотипические различия – 1,11 %. Одновременное действие других факторов на высоту растений было незначительным (рис. 3).

Изучение гибридов в трех пунктах исследования в течение двух лет испытаний по устойчивости растений к полеганию в период «колошение–восковая спелость зерна» показало, что все гибридные формы обладали высокой и очень высокой устойчивостью (7–9 баллов).

Таким образом, изучение экологической изменчивости признака «высота растений» гибридных (F_4 , F_5) форм яровой мягкой пшеницы показало, что в условиях слабой засушливости экспериментального участка биостанции «Озеро Кучак» (Россия) гибриды формировали более низкие растения, чем в географических пунктах Германии. Наибольшим размахом варьирования (60,1 см) и коэффициентом вариации ($CV = 22,86\%$) в среднем за два года исследований характеризовался гибрид ♀Hybrid × ♂Лютесценс 70 при выращивании на экспериментальном участке Вальдорфской школы. В основном для изучаемого признака была выявлена средняя степень изменчивости ($CV = 11–25\%$).

Среди проходивших оценку гибридных форм наиболее стабильное проявление признака в меняющихся условиях окружающей среды по данным 2013–2014 гг. наблюдалось у ♀Hybrid × ♂Лютесценс 70 и ♀Сага × ♂Скэнт 3.

На основании трехфакторного дисперсионного анализа были установлены существенная доля изменчивости, обусловленная контрастностью пунктов испытаний (58,70 %), и незначительная зависимость от генотипических различий (1,11 %) исследуемого материала. Отмечена существенная роль абиотических факторов (географического расположения, климатических и эдафических условий) пунктов в изменчивости исследуемого признака.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Белов Н.Ф., Смирнова И.А. Методические указания по дисциплине «Прикладная метеорология – оптимизация управляющих решений» для высших учебных заведений. СПб.: Изд-во РГГМУ, 2006.
- Ведров Н.Г. Селекция и семеноводство яровой пшеницы в экстремальных условиях. Красноярск: Изд-во Красноярск. гос. ун-та, 1984.
- Возиян В.И. Продуктивный и адаптивный потенциал различных сортов пшеницы мягкой озимой и влияние условий среды на его уровень. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2014;1(1):100-105.
- Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL. М.: ФОРУМ, 2008.
- Градчанинова О.Д., Филатенко А.А., Руденко М.И. Методические указания по изучению мировой коллекции пшеницы. Л.: ВИР, 1987.
- Дорофеев В.Ф., Лаптев Ю.П., Чекалин Н.М. Цветение, опыление и гибридизация растений. М.: Агропромиздат, 1990.
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки исследований). М.: Агропромиздат, 1985.
- Ермакова Л.Н., Шкляев В.А., Шкляева Л.С. Современные изменения климатических и агрометеорологических характеристик в Пермском крае и возможные вариации продуктивности сельскохозяйственных культур. *Вестник Удмуртского ун-та*. 2013;(2): 104-116.
- Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (экологические основы). М.: Изд-во РУНД, 2001;1:780.
- Кильчевский А.А., Хотылева Л.В. Генотип и среда в селекции растений. Минск: Наука и техника, 1989.
- Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск: Тэхнолoгiя, 1997.
- Корзун О.С., Бруйло А.С. Адаптивные особенности селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений. Гродно: Изд-во Гродн. гос. аграр. ун-та, 2011.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990.
- Лихенко И.Е. Селекция яровой мягкой пшеницы для условий Северного Зауралья. Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Тюмень, 2004.
- Международный классификатор СЭВ рода *Triticum* L. Л.: ВИР, 1984.
- Методы оценки последствий изменения климата для физических и биологических систем. М.: Росгидромет, 2012.
- Носатовский А.И. Пшеница. М.: Сельхозгиз, 1950.
- Погода и климат. <http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php> (Дата обращения 4 октября 2014)
- Северцов А.С. Основы теории эволюции. М.: Изд-во МГУ, 1987.
- Фляксбергер К.А. Пшеница. М.: Сельхозгиз, 1938.
- Шаманин В.П., Трущенко А.Ю. Общая селекция и сортоведение полевых культур. Омск: Изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2006.
- Шелепов В.В., Чебаков Н.П., Вергунов В.А., Кочмарский В.С. Пшеница: история, морфология, биология, селекция. Мионовка: Миронов. ин-т пшеницы им. В.Н. Ремесло, 2009.
- Яковский А.С. Наследование высоты растений внутривидовых гибридов озимой твердой пшеницы в связи с селекцией на продуктивность. Дис. ... канд. с.-х. наук. Краснодар, 2010.
- Acquaah G. Principles of Plant Genetics and Breeding. Malden.: BLACWELL PUBLISHING, 2007.
- Baresel J.P. Weizenzüchtung für den Ökologischen Landbau: Dissertation TU München D 91. Berlin: Verlag Dr. Köster, 2006.
- Field A., Miles J., Field Z. Discovering statistics using R. L.: SAGE Publications Ltd, 2012.
- Matthäus W.G., Schulze J. Statistik mit Excel: Beschreibende Statistik für jedermann. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag, 2011.
- Proplanta. Das Informationszentrum für die Landwirtschaft. available at <http://www.proplanta.de/Agrar-Wetter/Deutschland/> (accessed 10 October 2014)
- Umweltanalytische Produkte GmbH. available at <http://www.upgmbh-logstar.de/> (accessed 10 October 2014)

Создание и оценка сортов ячменя озимого на групповую устойчивость к головневым заболеваниям

И.Б. Легкун

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения, Одесса, Украина

В производственной практике не теряет актуальности вопрос иммунитета сортов ячменя озимого к головневым заболеваниям. Первыми сортами селекции СГИ – НЦ СС (Украина), обладающими комплексной устойчивостью к головневым заболеваниям, были: Зимовый (2005), Достойный, Трудивнык, Селена Стар, Абориген (2006). В дальнейшем были созданы Академичный, Айвенго (2012), Буревий (2013), Снигова королева (2014), Девятый вал (2015). Все они получены с участием доноров с.и. 13664 и Джау Кабутак, однако природа групповой устойчивости оставалась недостаточно изученной. Целью данной работы было изучение проблемы головневых заболеваний на культуре ячменя озимого в условиях юга Украины, установление природы групповой устойчивости доноров с.и. 13664 и Джау Кабутак к черной пыльной и твердой головне, создание нового высокопродуктивного селекционного материала, устойчивого к головневым заболеваниям. По результатам проведенной работы установлено, что недобор урожая вследствие прямых и скрытых потерь может достигать до 44,1 %, в зависимости от уровня восприимчивости – устойчивости сорта. Выявлен моногенный доминантный контроль устойчивости к видам черной пыльной и твердой головни. В F₂ дигибридного анализирующего скрещивания доля рекомбинантов составила 5,1–9,5 %. Предполагается, что имеет место неполное сцепленное наследование генов устойчивости. Апробирован метод естественного инфицирования на искусственном фоне (в полевых условиях) местными популяциями черной пыльной (*Ustilago nigra*) и твердой (*Ustilago hordei*) головни с тестовой (инвазивной) оценкой сортообразцов на этапе конкурсного сортоиспытания.

Ключевые слова: ячмень озимый; устойчивость; гибридизация; селекция; черная пыльная головня; твердая головня.

Development and evaluation of winter barley varieties for group resistance to smut diseases

I.B. Legkun

Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation (PBGI – NCSCI), Odessa, Ukraine

The problem of the immunity of winter barley varieties to smut diseases is still urgent in the agricultural practice. The first varieties bred by PBGI – NCSCI (Ukraine) that possessed complex disease resistance to smut diseases were Zimovyi (2005), Dostoinyi, Trudivnyk, Selena Star, and Aborihen (2006). They were followed by Akademichnyi, Aivenho (2012), Burevii (2013), Snigova koroleva (2014), and Deviatyi val (2015). They were all developed with the participation of donors s.i. 13664 and Dzhau Kabutak; however, the nature of the group resistance remained insufficiently studied. The objectives of this work were the study of the topical problem of smut diseases in winter barley in Southern Ukraine, elucidation of the nature of group resistance to false loose smut and covered smut species in the donors s.i. 13664 and Dzhau Kabutak, and development of new highly productive breeding material resistant to smut diseases. According to the results of this study it was found that the yield loss caused by the direct and hidden losses depending on the level of susceptibility-resistance of the variety could be as large as 44,1 %. The study revealed a monogenic dominant control of the resistance to false loose smut and covered smut species. The proportion of recombinants in the F₂ generation of a double analyzing cross varied from 5,1 to 9,5 %. Our opinion is that there was an incomplete linkage of the inheritance of resistance genes. When developing resistant breeding material we tested an integrated approach combining several principles. In doing this, we tried the following method: natural infection with local populations of false loose smut (*Ustilago nigra*) and covered smut (*Ustilago hordei*) against artificial background (in the field) followed by the test (invasive) assessment of the variety samples at the stage of competitive variety trial.

Key words: winter barley; resistance; hybridization; breeding; false loose smut; covered smut.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Легкун И.Б. Создание и оценка сортов ячменя озимого на групповую устойчивость к головневым заболеваниям. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):191-196. DOI 10.18699/VJ15.024

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Legkun I.B. Development and evaluation of winter barley varieties for group resistance to smut diseases. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):191-196. DOI 10.18699/VJ15.024

DOI 10.18699/VJ15.024

УДК 633.16:631.527

Поступила в редакцию 18.11.2014 г.

Принята к публикации 24.02.2015 г.

© АВТОР, 2015



e-mail: legkuni@mail.ru

До недавнего времени о существовании коммерческих сортов ячменя озимого с групповой устойчивостью к головневым заболеваниям было недостаточно информации (Кривченко, 1984; Степановских, 1990; Шермет, Легкун, 2010). В товарном производстве это означало абсолютную зависимость от фунгицидов, что в итоге выливалось в увеличение себестоимости конечного продукта. С учетом неизбежного риска, связанного с применением химических средств защиты, экономической и экологической составляющих проблемы, весьма актуальным является именно селекционный путь создания устойчивых к возбудителям головневых заболеваний сортов ячменя озимого.

В настоящее время у ячменя идентифицировано 15 генов, контролирующих расоспецифическую устойчивость к пыльной головне, которые обозначаются символом *Run* (resistance to *Ustilago nuda*) (*Run 1–Run 15*) и обладают доминантным характером наследования. Только ген *run 7* является рецессивным. Наиболее эффективными признаны *Run 8*, *Run 12* и *Run 15* (Menzies, Thomas, 2014; Zang, Eckstein, 2015). На базе известных генов устойчивости получен ряд коммерческих сортов ячменя ярового, между тем проблема устойчивости к головневым патогенам ячменя озимого до недавнего времени оставалась открытой (Menzies, Thomas, 2014).

Появление в Украине устойчивых к обозначенным патогенам сортов ячменя озимого датировано 2005 г. В стране работу по данному направлению инициировал отдел селекции и семеноводства ячменя СГИ–НЦ СС. Первыми сортами такого типа были Зимовый (2005), Достойный, Трудивнык, Селена Стар, Абориген (2006). В дальнейшем были созданы Академичный, Айвенго (2012), Буревий (2013), Снегова королева (2014), Девятый вал (2015), Презен (ГСИ) селекции СГИ–НЦ СС, однако природа групповой устойчивости оставалась недостаточно изученной.

Материалы и методы

Изучение резистентности ячменя озимого к видам рода *Ustilago* – пыльной [*Ustilago tritici. hordei* (Jens.) Kell. Et Sw.], ложной пыльной, или черной пыльной [*Ustilago nigra* Tarpe = *Ustilago avenae* (Pers.) Rostr.], и твердой (каменной) [*Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh] (Гарибова, Лекомцева, 2005) головне проводилось на протяжении 2007–2010 гг. на двух группах сортов – восприимчивых и с высоким уровнем резистентности. (В основном тексте настоящей работы приводятся как синонимы старые, более известные, названия патогенов: пыльная головня – *Ustilago nuda* (Jensen) Rostr; ложная пыльная, или черная, головня – *Ustilago nigra* Tarpe.). Исследования проводили в четырех вариантах: протравленными системным фунгицидом Витавакс 200 ФФ^Р с нормой расхода 3,0 л/т и непротравленными семенами, которые были получены с искусственных инфекционных фонов. Семена предварительно инокулировали смесью телиоспор рас видов пыльной головни (ожидаем реакцию иммунитета к *U. nigra*) и телиоспорами рас твердой головни (ожидаем реакцию иммунитета к *U. hordei*) – по пятьдесят зерновок в каждом из вариантов. При определении влияния патогенов на урожайность растений учитывались скрытые

(энергия прорастания, всхожесть) и прямые (разница в урожайности между вариантами) потери зерна.

Наследуемость резистентности изучалась в гибридных поколениях F_1 – F_2 , полученных от скрещивания доноров с.і. 13664 (носитель гена *Run 8*), Джая Кабутак с сортами, восприимчивыми к головневым заболеваниям (Падёрина, 1981). В скрещиваниях использовались сорта ячменя озимого Одесский 165, Манас, Тамань и Основа. Определение сцепления генов устойчивости к черной пыльной и твердой головне проводили по дигибридной схеме на семьях второго поколения BC_1 по комбинациям (Одесский 165 × с.і. 13664) F_1 × Одесский 165; (Манас × Джая Кабутак) F_1 × Манас; (Тамань × с.і. 13664) F_1 × Тамань; (Основа × Джая Кабутак) F_1 × Основа. Подход заключался в инокулировании более 300 растений F_1 по всем комбинациям скрещивания методом половинок, раздельно черной пыльной и твердой головней.

На всех этапах селекционного процесса нами использована типичная схема посева, при которой каждая делянка инфицируется максимально возможной одинаковой инфекционной дозой. Фоновый накопитель размещали через каждые 20 делянок (с интервалом 30 м) во всех питомниках селекционного процесса.

Величину рекомбинации вычисляли методом максимальной достоверности по Фишеру (Рокицкий, 1973). Расчет χ^2 для данных расщепления проводили по Рокицкому (1973).

Результаты

Среди сортов, восприимчивых и резистентных к *U. nigra* и *U. hordei*, абсолютный показатель недобора урожая от скрытых (снижение энергии прорастания, всхожести) и прямых (пораженные растения в посеве) потерь, по нашим данным, составил 44,1 % (табл. 1). Отметим, что степень поражения патогенами среди восприимчивых сортов достаточно вариабельна. Относительно второй группы можно утверждать, что представленные сорта обладают абсолютной устойчивостью к головневым заболеваниям, как минимум к двум контролируемым видам головни – *U. nigra* и *U. hordei*.

Для определения природы устойчивости доноров с.і. 13664 и Джая Кабутак к черной пыльной и твердой головне в селекции сортов ячменя озимого мы провели гибридологический анализ.

Тип наследования резистентности F_1 оценивали по результатам реакции на инфицирование семян (методом половинок) отдельными вариантами как черной пыльной (первый вариант), так и твердой (второй вариант) головни.

В первом варианте не выявлено ни одного колоса, пораженного возбудителем черной пыльной головни. Следовательно, можем предполагать доминантный характер наследования признака (табл. 2). Выявленная устойчивость на фоне местных популяций *U. nigra* (условно обозначим – *Rung*) ранжируется как высокая.

Во втором варианте, при инокулировании другой половины зерен популяцией местных рас твердой головни, наблюдалась аналогичная картина.

В F_1 во всех комбинациях скрещиваний в период полного колосения инфекции твердой головни не выявлено

Таблица 1. Поражение сортов ячменя озимого головневыми патогенами на естественном фоне (2007–2008 гг.)

Сорт	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Урожай зерна с 50 растений, г		Поражение массива ячменя озимого головней, %		Суммарные потери урожая, %
			посев необеззараженными семенами	сохранение урожая при обеззараживании семян	<i>U. nuda</i> , <i>U. nigra</i>	<i>U. hordei</i>	
2007 г.							
Паллидум 90-55-74	76	82	158,6	+96,3**	17,9	16,2	44,1
Росава	92	96	173,0	+11,2	0,6	1,1	1,7
Основа	88	90	137,8	+33,6**	7,1	9,2	18,3
Метелица	89	92	126,5	+16,0*	5,3	8,6	13,9
Зимовый	98	98	194,3	–	–	–	–
Трудивнык	95	95	173,0	–	–	–	–
Достойный	96	97	168,6	–	–	–	–
Селена Стар	94	94	187,6	–	0,03	–	–
2008 г.							
Паллидум 90-55-74	83	88	184,6	+73,7**	15,6	10,2	30,8
Росава	93	95	125,1	+129,8**	0,2	0,9	1,1
Основа	89	92	235,4	+42,2**	5,8	7,4	13,2
Метелица	90	92	200,7	+46,4**	3,7	9,4	13,1
Зимовый	97	97	211,4	–	–	–	–
Трудивнык	93	95	237,0	–	–	–	–
Достойный	99	99	246,2	–	–	–	–
Селена Стар	96	96	246,8	–	–	–	–

Достоверно при: * 0,05 %; ** 0,01 %.

Таблица 2. Наследование резистентности к популяциям местных рас черной пыльной головни (*U. nigra*) у F₁ и F₂ ячменя озимого на искусственном инфекционном фоне (2004–2005 гг.)

Комбинации скрещивания	F ₁		F ₂		Расщепление, шт.				χ^2 3 : 1
	Кол-во растений, шт.		Зимостой- кость, %	Кол-во рас- тений	фактическое		теоретически ожидаемое		
	общее	пора- женных			резистентных	восприимчивых	резистентных	восприимчивых	
Одесский 165 × с.и. 13664	48	0	75,1	580	441	139	435,0	145,0	0,33
Тамань × с.и. 13664	48	0	73,4	624	476	148	468,0	156,0	0,55
Основа × Джая Кабутак	46	0	68,1	494	374	120	370,3	123,7	0,15
Манас × Джая Кабутак	47	0	69,5	409	296	113	381,7	127,3	20,8

(табл. 3). Нами не было выявлено ни одного соруса возбудителя, что свидетельствует о доминантном эффекте проявления гена, который обуславливает устойчивость к *U. hordei* (условно обозначим – *Ruh*).

Расщепление в F₂ на резистентные и восприимчивые во всех комбинациях скрещивания зафиксировано в соотношении, близком к 3 : 1. Следовательно, наследование резистентности к обоим видам патогена (у обоих доноров устойчивости) происходило моногенно.

Предположим, что это два самостоятельных гена и находятся они не в разных, а в одной гомологичной паре хромосом. Для установления наличия сцепления генов устойчивости к указанным видам головни нами проведены анализирующие скрещивания BC₁ (F₁ × родительский восприимчивый сорт) носителей генов:

$$\frac{Rung\ Ruh}{rung\ ruh} \times \frac{rung\ ruh}{rung\ ruh}$$

Таблица 3. Наследование резистентности в F₁ и F₂ ячменя озимого к популяциям местных рас твердой головки при искусственном инокулировании (2004–2005 гг.)

Комбинации скрещивания	F ₁		F ₂			Ожидаемое расщепление, шт.				χ^2 3:1
	Кол-во растений	Кол-во колосьев, шт.		Пере-зимовало, %	Кол-во растений	фактическое		теоретическое		
		резис-тентных	пора-женных			резис-тентных	повреж-денных	резис-тентных	повреж-денных	
Одесский 165 × с.и. 13664	47	98	0	72,4	530	407	123	397,3	132,7	0,95
Тамань × с.и. 13664	41	99	0	73,1	512	391	121	384,0	128,0	0,51
Основа × Джау Кабутак	45	88	0	69,8	489	370	119	366,7	122,3	0,12
Манас × Джау Кабутак	40	86	0	70,7	496	377	119	371,7	124,3	0,30

Таблица 4. Дигибридологический анализ наследования устойчивости к местным популяциям рас черной пыльной и твердой головки

Комбинации скрещивания	n	Кол-во номеров								Рекомбинация, %	χ^2 1:1:1:1
		резистентных, <i>Rung Ruh</i> / <i>rung ruh</i>		поврежденных черной пыльной головней, <i>rung Ruh</i> / <i>rung Ruh</i>		поврежденных твердой головней, <i>Rung ruh</i> / <i>Rung ruh</i>		восприимчивых к обоим видам головки, <i>rung ruh</i> / <i>rung ruh</i>			
		F ₂	F ₂	%	F ₂	%	F ₂	%	F ₂		
(Одесский 165 × с.и. 13664) F ₁ × Одесский 165	287	207	72,1 ± 2,6	9	3,1 ± 1,7	10	3,5 ± 1,8	61	21,3 ± 2,4	7,1	364,7
(Тамань × с.и. 13664) F ₁ × Тамань	292	215	73,6 ± 2,6	6	2,1 ± 0,8	9	3,1 ± 1,0	62	21,2 ± 2,4	5,1	295,4
(Манас × Джау Кабутак) F ₁ × Манас	274	191	69,7 ± 2,8	12	4,4 ± 1,5	14	5,1 ± 1,3	57	20,8 ± 2,5	9,5	310,9
(Основа × Джау Кабутак) F ₁ × Основа	281	200	71,2 ± 2,7	12	4,3 ± 1,2	11	3,9 ± 1,2	58	20,6 ± 2,4	8,2	339,8

Оценка устойчивости к головневым патогенам BC₁ была корректной лишь в анализе семей второго поколения (F₂). Каждое растение BC₁F₁ было обмолочено отдельно, зерна разделены пополам и искусственно инфицированы (методом половинок) местными популяциями: одна половина – черной пыльной, вторая – твердой головней.

При апостериорном рассмотрении результатов исследования в случае независимого наследования можно ожидать четыре фенотипических класса в соотношении 1:1:1:1, а при сцеплении – 3:1. Полевая оценка заключалась в учете фенотипических классов (табл. 4).

Нами было получено четыре фенотипических класса, но соотношение их было отличным от теоретически ожидаемого для независимого наследования. В абсолютном большинстве обнаружен класс резистентных фенотипов к обоим видам головки – генотип *Rung Ruh*/*rung ruh*. Он составил более 70 % с незначительными колебаниями между комбинациями.

Следующий выявленный класс генотипов, восприимчивых к обоим видам головки, – генотип *rung ruh*/*rung ruh*. Он составил более 20 % с незначительными колебаниями.

На долю рекомбинантных классов (восприимчивого к черной пыльной/устойчивого к твердой головне (генотип *rung Ruh*/*rung Ruh*), и, наоборот, устойчивого к черной пыльной/восприимчивого к твердой головне (генотип *Rung ruh*/*Rung ruh*), пришлось оставшаяся часть. Таким образом, по результатам гибридологического анализа можно сделать вывод о дигенном характере наследования признаков устойчивости к *U. nigra* и *U. hordei* и об очень близком расположении генов устойчивости в хромосоме. Так, процент рекомбинации описанных генов во время дупликации хромосом не превышает абсолютного значения в 9,5 % (в комбинации [Манас × Джау Кабутак] F₁ × Манас).

Сцепленным наследованием генов устойчивости обусловлена эффективность использования представленных доноров в селекции сортов ячменя озимого на групповую устойчивость к *U. nigra* и *U. hordei*.

Успех в селекции в значительной степени зависит от достоверности полевой оценки. Оценка и отбор генотипов на резистентность к видам пыльной головки проводилась в условиях жесткого инфекционного фона, т. е. имеющийся естественный инфекционный фон усиливался наличием

Таблица 5. Устойчивость генотипов в селекционных питомниках

Питомник	2000–2002 гг.		2005–2007 гг.	
	Кол-во, шт.	%	Кол-во, шт.	%
Гибридных популяций	125	80,0	119	74,1
Гибридный	168	54,3	171	31,7
Селекционный	18434	92,5	11200	95,0
Контрольный	1287	81,8	559	94,4
Предварительного сортоиспытания	190	90,5	–	–
Конкурсного сортоиспытания	105	92,2	95	90,9

специальной высоковосприимчивой линии Паллидум 90-55-74. Закладывались делянки четырех типов питомников: селекционный, контрольный, предварительного и конкурсного сортоиспытаний.

В условиях жестких браковок с каждым этапом селекции количество устойчивых генотипов относительно общего объема питомников возрастало (табл. 5). В случае оценок в предварительном сортоиспытании после ротации селекционного материала, включающего все звенья селекции, результаты тестирования показали достаточно высокий уровень достоверности полевой оценки предыдущих поколений (90 %) (см. Дополнительные материалы¹).

Из 60 образцов, отобранных из всего материала предыдущих лет испытаний, лишь шесть оказались восприимчивыми к черной пыльной и твердой головне. Первые четыре линии поражались лишь черной пыльной головней, что подтверждает факт сцепленного наследования доминантных генов *Rung* и *Ruh* к возбудителям *U. nigra* и *U. hordei*.

Обсуждение

Из литературных источников (Кривченко, 1984; Степановских, 1990) известно, что из-за прямых и скрытых потерь недоборы урожая ячменя ярового могут достигать 30 %, актуальность же вредоносности возбудителей головневых заболеваний для ячменя озимого освещена недостаточно.

Исследования, проведенные в настоящей работе, дают основания говорить о большей вредоносности головневых заболеваний на ячмене озимом, чем на ячмене яровом. Недобор урожая вследствие прямых и скрытых потерь в зависимости от уровня восприимчивости – устойчивости сорта ячменя озимого может достигать до 44,1 % (табл. 1).

Устойчивость к возбудителям головневых заболеваний изученных сортов ячменя озимого, созданных в СГИ – НЦ СС, может основываться на влиянии доноров устойчивости (линия с.і. 13664, сорт Джау Кабутак) (Шеремет, Легкун, 2010).

В соответствии с данными Moseman, Metcalfe (Моземан, 1973) для ячменя и *U. nigra* вероятным является характер взаимодействия генетических систем, отвечающих гипотезе «ген-на-ген». Итак, с начала исследований у нас были априорные основания ожидать проявления

нескольких генетических «факторов», обуславливающих резистентность изученных сортов к головневым патогенам (Menzies, Steffenson, 2010).

Как показал гибридологический анализ, проведенный с использованием указанных источников, наследуемость резистентности к возбудителям *U. nigra* и *U. hordei* контролируется двумя доминантными генами, *Rung* и *Ruh*. Представленные гены устойчивости к обоим видам головни с высокой вероятностью наследуются сцепленно. При дигибридном анализирующем скрещивании доля кроссинговера между ними по всем комбинациям скрещивания не превышает 9,5 %.

Настоящей работой доказана высокая эффективность источников с.і. 13664 и Джау Кабутак (описывается впервые) в качестве доноров устойчивости к популяциям местных рас возбудителей *U. nigra* и *U. hordei*. Представленные доноры являются одинаково эффективными в селекции на резистентность к *U. nigra* и *U. hordei*. Данная информация особенно ценна в отношении донора с.і. 13664 (носителя гена *Run 8*), который, являясь признанным эффективным источником устойчивости к пыльной головне (Zang, Eckstein, 2015), оказался высокоэффективным источником резистентности еще и к черной головне.

При создании высокоустойчивого материала нами были использованы несколько принципов:

поиск эффективных доноров устойчивости к возбудителям головневых заболеваний, задействованы яровые доноры (с.і. 13664 и Джау Кабутак);

вовлечение в селекционную программу доноров – носителей эффективных генов устойчивости к популяциям местных рас видов головни;

создание эффективного инфекционного фона в селекции на резистентность к возбудителям головни.

Ячмень озимый является факультативным самоопылителем, однако, по нашим наблюдениям, этой культуре свойственен высокий уровень открытого цветения, причем склонность к перекрестному типу опыления наблюдается ежегодно (Шеремет, Легкун, 2010), что является одним из основных условий для природного инфицирования цветка и зародыша при соответствующей фоновой нагрузке видами пыльной головни.

При оценке селекционного материала нами был использован комбинированный подход, включающий следующее: естественное инфицирование колосьев (во время цветения, налива и сбора зерна) на усиленном фоне в по-

¹ Дополнительные материалы см. в Приложении 2 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2015-06/appx2.pdf>

левых условиях и искусственная (тестовая) оценка номеров – искусственное нанесение инфекции (на предварительно подготовленную зерновку). В конкурсном сортоиспытании проводилась тестовая оценка линий при искусственном заражении черной пыльной (*U. nigra*) и твердой (*U. hordei*) головней.

Предложен эффективный метод, позволяющий без дополнительных материальных затрат проводить одновременную оценку и отбор селекционного материала на устойчивость к местным популяциям черной пыльной и твердой головней во всех звеньях селекционного процесса. Метод позволяет «отсеять» поврежденные генотипы уже на первых этапах селекции.

В 2010 г. при тестовой оценке линий конкурсного сортоиспытания на устойчивость к заражению телиоспорами местных популяций *U. nigra* и *U. hordei* из 60 образцов лишь шесть оказались восприимчивыми. При этом четыре линии поражались лишь черной пыльной головней, что подтверждает факт сцепленного наследования доминантных генов *Rung* и *Ruh* к возбудителям *U. nigra* и *U. hordei*.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н. Основы микологии (Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005.
- Кривченко В.И. Устойчивость зерновых культур к возбудителям головневых болезней. М.: Колос, 1984.
- Моземан Д.Г. Болезни ячменя и борьба с ними. Ячмень. М.: Колос, 1973.
- Падерина Е.В. Использование метода возвратных скрещиваний в селекции ячменя на устойчивость к головневым заболеваниям. Е.В. Падерина. Селекция и семеноводство зерновых культур в Сибири. Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1981.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйшая шк., 1973.
- Степановских А.С. Головневые болезни ячменя. А.С. Степановских. Челябинск: Южно-Уральское кн. изд-во, 1990.
- Шеремет О.М., Легкун І.Б. Успадкування стійкості до місцевої популяції рас летючої чорної (*Ustilago nigra*) та твердої (*Ustilago hordei*) видів сажки в селекції озимого ячменю. Бюл. Інституту зернового господарства. Дніпропетровськ, 2010;(39):117-120.
- Menzies J.G., Steffenson B.J., Kleinhofs A. A resistance gene to *Ustilago nuda* in barley is located on chromosome 3H. Can. J. Plant Pathol., 2010;32(2):247-251.
- Menzies J.G., Thomas P.L., Woods S. Incidence and severity of loose smut and surface-borne smuts of barley on the Canadian prairies from 1972 to 2009. Can. J. Plant Pathol., 2014;36(3):300-310.
- Zang W., Eckstein P.E., Colin M., Voth D., Himmelbach A., Beier S., Stein N., Scoles G.J., Beattie A.D. Fine mapping and identification of a candidate gene for the barley *Un8* true loose smut resistance gene. Theor. Appl. Genet., 2015;128:1209-1218. DOI: 10.1007/s00122-2501-5

Генетический контроль признаков, связанных с усвоением фосфора у сортов риса (*Oryza sativa* L.)

Ю.К. Гончарова, Е.М. Харитонов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар, п. Белозерный, Россия

Цель данного исследования – выявление генетического материала, характеризующегося высокой скоростью роста и максимальными размерами корневой системы; изучение полиморфизма российских и зарубежных сортов риса по маркерам, связанным с генами, определяющими эффективное использование фосфора; установление возможности использования перечисленных в статье SSR маркеров (Simple Sequence Repeats – простые повторяющиеся последовательности) для интрогрессии локализованных ранее генов и разделение образцов-доноров, выявляемых в российской генплазме, на группы с высокой вероятностью формирования устойчивости за счет различных генетических механизмов. Обсуждаются признаки, определяющие интенсивность поглощения фосфора сортами риса, и их наследование. Изучен полиморфизм 72 образцов риса российской и зарубежной селекции по скорости формирования корневой системы и ее размерам при созревании. Максимальная скорость формирования корневой системы характерна для сортов: Лиман, Арборио, Дальневосточный, Selenio, Oceano, Атлант, Musa, Фонтан, Cerere, Шарм, Серпантин, Ханкайский 52, Лидер, Боярин, Дружный. Российские образцы характеризовались более высокой скоростью роста по сравнению с итальянскими. В фазу созревания масса корня у сортов риса варьировала от 1,5 до 4,5 г, максимальной массой корня характеризовались сорта: Карнизе, Рапан, Ониск, Г-57; длина корня у сортов риса варьировала от 17 до 26 см. Максимальные значения отмечены у сортов: Д 25-2, Г 75-5, Рыжик, Г-52, Крепыш, Снежинка. Полиморфизм российских и зарубежных сортов по всем изучаемым SSR локусам, связанным с генами, определяющими усвоение фосфора, показал наличие возможности проведения маркерной селекции в отношении этого признака в изученной генплазме. Максимальное число аллелей отмечено при использовании маркера RM 247, расположенного на хромосоме 12.

Ключевые слова: рис; оценка селекционного материала; генетика; эффективность использования фосфора; полиморфизм; SSR маркеры; корневая система.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. Генетический контроль признаков, связанных с усвоением фосфора у сортов риса (*Oryza sativa* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):197-204. DOI 10.18699/VJ15.025

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Goncharova J.K., Kharitonov E.M. Genetic control of traits determining phosphorus uptake by rice varieties (*Oryza sativa* L.). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):197-204. DOI 10.18699/VJ15.025

DOI 10.18699/VJ15.025
УДК 633.18:575.2:631.523
Поступила в редакцию 15.12.14 г.
Принята к публикации 09.02.2015 г.
© АВТОРЫ, 2015

 e-mail: serggontchar@mail.ru

Genetic control of traits determining phosphorus uptake by rice varieties (*Oryza sativa* L.)

J.K. Goncharova, E.M. Kharitonov

All-Russian Rice Research Institute, Krasnodar, Settlement Belozerniy, Russia

The objectives of this research are: (1) to find genetic material associated with high growth rate and maximum size of root system, (2) to study polymorphism of rice varieties for markers connected with genes defining effective utilization of phosphorus, (3) to estimate the possibility of using listed SSR markers for introgression of previously mapped genes, and (4) to classify donor accessions found in the Russian gene pool into groups according to the probability of stability formation by various genetic mechanisms. Traits determining the rate of phosphorus uptake by rice varieties and their inheritance are discussed. Polymorphism of 72 rice accessions of Russian and foreign breeding by the rate of the formation of the root system and its size at maturity is considered. The highest rates of root system formation are found in varieties Liman, Arborio, Dalnevostochnyi, Selenio, Oceano, Atlant, Musa, Fontan, Cerere, Sharm, Serpentine, Khankaiskii 52, Leader, Boyarin, and Druzhnyi. Russian varieties outperform Italian ones in growth rate. Root weights at the maturation stage varied from 1,5 to 4,5 grams. Varieties Carnise, Rapan, Onix and G-57 display the greatest root weights at the maturation stage. Root lengths at the maturation stage varied from 17 to 26 cm. Varieties D 25-2, G 75-5, Ryzhik, G-52, Krepys, and Snezhinka had the maximum values. Study of polymorphism of Russian and foreign varieties on the markers associated with the genes determining uptake of phosphorus has revealed polymorphism for all markers; thus, marker-assisted selection can be applied to them in breeding for this trait. The maximum number of alleles is noted for the RM 247 marker, located on chromosome 12.

Key words: rice; estimation of breeding material; genetics; efficiency of phosphorus using; polymorphism; SSR markers, root system.

Наиболее значительные успехи в изучении генетики эффективности минерального питания сделаны в направлении исследования фосфорного обмена. Фосфор (P) – самый важный неорганический элемент питания растений после азота и одно из наименее доступных питательных веществ из-за его тенденции находиться в почве в связанном состоянии. Приблизительно 5,7 млрд га почв во всем мире содержат недостаточное количество доступного для растений фосфора (Batjes, 1997) и почти 50 % почв, занятых под рисом, в настоящее время обеднены по его содержанию. Этот дефицит может быть ликвидирован применением удобрений, которые фермеры часто не вносят вследствие их высокой цены. Кроме того, природные фосфаты горных пород, относительно легко доступные растениям, представляют ресурс, который может быть исчерпан к концу 21 столетия (Runge-Metzger, 1995). Поэтому получение сортов культурных растений, способных к лучшему поглощению имеющегося в почвах связанного фосфора, формированию высоких урожаев при внесении невысоких доз фосфорных удобрений и более эффективному использованию поглощенного фосфора имеет первостепенную важность. Установлены генотипические различия у образцов риса по способности усваивать фосфор в условиях его дефицита (Fageria, Baligar, 1997; Kirk et al., 1998). Сравнение генотипов риса показало 20-кратное различие в эффективности усвоения фосфора между крайними типами (Wissuwa, Ae, 2001; Peng, Ismail, 2004). Все высокоэффективные генотипы – это стародавние сорта или эндемичные образцы. Современные высокоурожайные сорта недостаточно адаптированы к дефициту фосфора.

Дефицит фосфора может существенно затронуть рост и развитие риса. Растения, выращенные на почвах с дефицитом фосфора, – чахлые, с темно-зелеными листьями, подавленным развитием корневой системы и сниженным кушением (Doberman, Fairhurst, 2000). Задерживается созревание, повышается пустозерность, снижается качество зерна. Механизмы приспособления растений к низкому содержанию фосфора могут быть связаны с увеличением корневой системы, интенсификацией поглощения и внутренней эффективностью его использования. Под внутренней эффективностью в данном случае имеется в виду перераспределение поступающего фосфора между генеративными и вегетативными органами, между листьями одного или разных побегов и т. д.

Главным образом, вариабельность по признаку среди 30 генотипов риса объяснялась различиями в росте корневой системы, которая увеличивала площадь питания растений. Вариабельность по устойчивости к недостатку фосфора у риса в большей мере связана с различиями генотипов по способности его поглощать, в то время как изменение внутренней эффективности его использования было незначительно (Wissuwa, Ae, 2001). При дефиците фосфора больше ассимилятов растения перераспределяют к корням, замедляя развитие побегов. Серьезный дефицит его также уменьшает рост корня (Wissuwa, 2005; Wissuwa et al., 2005). Эффективный способ увеличения площади поверхности корневой системы состоит в увеличении длины и количества корней, а также количества корневых волосков. Несколько мутаций, затрагивающих их

развитие, были локализованы у арабидопсиса. Гомологи некоторых из генов, отвечающих за развитие корневых волосков, были идентифицированы в геноме риса (Hammond et al., 2004). Являются ли эти гены дифференцирующими генотипы риса на устойчивые и неустойчивые, до сих пор не определено. Модификации архитектуры корневой системы в почве, связанные с устойчивостью к недостатку фосфора, были идентифицированы у белого люпина и других бобовых растений, но не были известны у риса (Lambers et al., 2006). У бобовых поглощающая способность корня была ключевой адаптивной особенностью при дефиците фосфора (Shane, Lambers, 2005). Роль этого механизма в повышении устойчивости риса к недостатку элемента не показана. Значительные различия по длине корней не всегда обеспечивают различия в эффективности поглощения фосфора (Wissuwa, 2003). Поэтому необходимо рассматривать все взаимосвязанные факторы, управляющие процессами адаптации к недостатку фосфора. Факторы, вовлеченные в эффективную ремобилизацию и перемещение фосфора в пределах растения, и регулирование этих процессов на уровне генома слабо изучены (Misson et al., 2005; Morcuende et al., 2007). Большая часть фосфора в почве может присутствовать в органической форме, но эти органические комплексы должны быть переведены в доступную форму фосфатазами. У пшеницы генотипические различия в эффективности использования фосфора были связаны с различиями в активности фосфатаз (Marschner et al., 2006; Radersma, Grierson, 2004). Генотипические различия по данному признаку у риса не были обнаружены (Wissuwa, 2005). Фитиновая кислота (вещество, способствующее переводу связанного фосфора в доступный растением) часто представляет собой существенную органическую фракцию в почвах, но корни растений образуют ее мало, тогда как микроорганизмы могут выделять ее в значительных количествах, поэтому свойство корней поддерживать выгодные микробные сообщества могут являться дополнительным адаптивным механизмом (Richardson et al., 2001). Большинство растений, включая рис, способны к вступлению в симбиотические ассоциации с микоризными грибами. Это взаимодействие генетически обусловлено (Guimil et al., 2005). Однако в случае сорта Nirponbare стерилизация почвы не уменьшала различия в эффективности поглощения фосфора (Wissuwa, 2005). Биосинтез и выделение ризосферой органических кислот, повышающих доступность элементов, оказывали положительные эффекты на толерантность генотипов к дефициту цинка и фосфора у пшеницы и ячменя (Rengel et al., 1998; Suzuki et al., 2006). Перспективы улучшения сортов риса состоят в том, чтобы идентифицировать генетические детерминанты толерантности к дефициту фосфора и перенести их в высокоурожайные сорта с использованием молекулярных маркеров для контроля включения этих детерминант в создаваемые генотипы.

До сих пор, несмотря широкую генетическую изменчивость по данному признаку, прогресс в создании высокоурожайных, эффективно использующих фосфор сортов риса невелик. Обнадеживающее открытие состоит в том, что наследование признаков, связанных с устойчивостью к дефициту фосфора, в значительной степени определяется

двумя независимыми локусами с количественным эффектом (QTL) (Ni et al., 1998). Основной локус, названный *Pup1* и фланкируемый маркерами RM 235 и RM 247, локализовали в хромосоме 12, расстояние между маркерами – 0,2 сМ. С использованием фланкирующих маркеров ген *Pup1* был идентифицирован и у других сортов: Дулар, IAC 47, IAC 25, AUS 257, Vary Lava 701. Кластеризация 80 сортов, несущих различные аллельные варианты гена *Pup1*, показала, что устойчивый аллель идентифицировали у сортов, адаптированных к засухе. Он практически не встречался у сортов, культивируемых при орошении. Выделенные сорта-доноры характеризовались более длинной и разветвленной корневой системой по сравнению с другими генотипами, что подтверждает необходимость селекции на признак при создании генотипов, устойчивых к дефициту фосфора. С использованием маркеров была проведена успешная интрогрессия гена *Pup1* в ряд неустойчивых к данному стрессу сортов: IR 64, IR 74, Dodokah, Batur, Sity Bagendit (Xu et al., 2008; Pariasca-Tanaka et al., 2009). Ген *Pup1* определяет почти 80 % фенотипических различий в популяции (Wissuwa et al., 2002). Кроме того, в хромосоме 6 выявлен локус с менее значительным эффектом. QTL на хромосоме 6 определял 25–34 % фенотипических различий по признаку (Ni et al., 1997). Однако изучение влияния данного локуса в полевых условиях показало менее значительный эффект (Wissuwa et al., 2005). Несколько минорных локусов были нанесены на генетические карты других хромосом (Nguyen et al., 2003; Su et al., 2006; Zhang et al., 2006). Некоторые из этих QTL колокализованы с генами-кандидатами устойчивости к дефициту фосфора, выявленными ранее.

В другой маркированной популяции (Kasalath/Gimbozu) QTL, вызывающий удлинение корня при дефиците фосфора, также был локализован в хромосоме 6 (Shimizu et al., 2004). Позднее было выявлено еще несколько локусов, участвующих в процессе усвоения фосфора, на хромосомах 1, 2, 5 и 9 (Lang, Vuu, 2006). Как правило, гены, определяющие адаптивность, располагаются кластерами, но в случае с геном *Pup1* на хромосоме 12 других генов, связанных с признаком, в этом районе не найдено. Была отмечена одна особенность: положительный эффект гена *Pup1* более явен, когда дефицит фосфора совпадает с водным дефицитом.

Расстояние между другими маркерами, фланкирующими локализованные гены, определяющие устойчивость к недостатку фосфора, не превышало 12,9 сМ, что также позволяет применять их в практике, так как при использовании двух маркеров для контроля включения аллеля достоверность исследования повышается, поскольку вероятность двойного кроссинговера значительно ниже. Так, с помощью двух фланкирующих маркеров с расстоянием между ними 10 сМ можно идентифицировать ген с вероятностью 98,8 %, что соответствует принятым нормам (Ye, Smith, 2010). В более поздних работах на различных популяциях показана эффективность использования выделенных маркеров для интрогрессии признака (Chin et al., 2011).

Цель работы – выявление материала, с высокой скоростью роста проростков и размерами корневой системы, обеспечивающими более эффективное поглощение

элементов питания. Исследование полиморфизма отечественных сортов и доноров по признаку по маркерам, связанным с генами, определяющими эффективное использование фосфора. Установление возможности использования в работе SSR маркеров (Simple Sequence Repeats – простые повторяющиеся последовательности) для интрогрессии локализованных ранее генов; кластеризация доноров, выявляемых в российской генплазме, на группы с формированием устойчивости за счет различных механизмов.

Материалы и методы

Скорость формирования корневой системы изучали у семидневных проростков риса, выращенных в чашках Петри (в камере искусственного климата) при температуре 28 °С. Повторность опыта двукратная, выборка – 40 растений на вариант опыта. Изучение варибельности признаков «длина корня» и «масса корня» у образцов риса различного происхождения в фазу созревания (при уборке) проводили в лизиметрических опытах на двух фонах минерального питания – $N_{120}P_{60}K_{60}$ (низкий) и $N_{240}P_{120}K_{120}$ (оптимальный). Маркирование сортов риса проводили с использованием следующих SSR маркеров: RM 13, RM 19, RM 20, RM 247, RM 261, RM 309, RM 322 (Wissuwa et al., 2002; Nguyen et al., 2003; Su et al., 2006; Zhang et al., 2006; Chin et al., 2011). При молекулярном маркировании использовали сорта: Ханкайский, Садко, Приморский, Лиман, Гарант, Павловский, Рапан, Новатор, Серпантин, Боярин, Регул, Янтарь, Жемчуг, Лидер, Хазар, Аметист, Нарцисс, Дружный, Спринт, Виола, Дальневосточный, Фонтан, Касун, Юпитер, Атлант, Курчанка, Факел, Снежинка, Шарм, Анаит, Флагман, Изумруд, IR 66, NSIC RC 158, IR 68897 В. Последние три сорта получены из Международного научно-исследовательского института риса (Филиппины). Они высокоурожайные, имеют характерные признаки подвида *indica* и содержание амилозы более 22 %. Образец IR 68897В несет гены восстановления фертильности для цитоплазматической мужской стерильности типа «WA».

ДНК риса выделяли из этиолированных проростков и листьев с помощью СТАВ-метода в различных модификациях. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и визуализацию продуктов амплификации проводили по методике, описанной в литературе (Shimizu et al., 2004; Гончарова, 2013). Параметры ПЦР, использованные в данном эксперименте: 5 мин при 94 °С – начальная денатурация, следующие 35 циклов: 1 мин – денатурация при 94 °С, 1 мин – отжиг праймеров при 55 °С, 2 мин – синтез при 72 °С, последний его цикл – 7 мин при 72 °С. Смесь для ПЦР в общем объеме 10 мкл включала: 20 нг ДНК, по 0,2 мМ дезоксинуклеотидтрифосфатов (dNTPs), по 0,5 мкМ каждого праймера, 1,5 ед. Таq-полимеразы. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в полиакриламидном геле при напряжении 100 W. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6.0.

Результаты

Изучили 72 образца риса российской и зарубежной селекции по скорости формирования корневой системы и ее размерам при созревании. Российские образцы

Таблица 1. Длина корневой системы у проростков риса

Сорт	Длина корня, см (среднее значение)	Стандартная ошибка, см	Доверительный интервал, см	
			-95,00 %	+95,00 %
Лиман	11,00	2,26	6,49	15,51
Arborio	10,35	1,60	7,16	13,54
Дальневосточный	7,90	1,60	4,71	11,09
Selenium	7,50	2,26	2,99	12,01
Oceano	7,30	1,60	4,11	10,49
Атлант	7,25	1,60	4,06	10,44
Musa	7,20	2,26	2,69	11,71
Фонтан	7,00	2,26	2,49	11,51
Cerege	6,50	1,60	3,31	9,69
Шарм	6,33	1,13	4,07	8,58
Серпантин	6,30	1,60	3,11	9,49
Ханкайский 52	6,25	1,60	3,06	9,44
Лидер	6,15	1,60	2,96	9,34
Боярин	6,00	1,60	2,81	9,19
Дружный	6,00	2,26	1,49	10,51
Победа 65	6,00	1,60	2,81	9,19
Кумир	6,00	1,60	2,81	9,19
Гамма	5,50	1,60	2,31	8,69
Визит	5,40	1,60	2,21	8,59
Факел	5,25	1,60	2,06	8,44
Нарцисс	5,05	1,60	1,86	8,24
Ивушка	5,00	2,26	0,49	9,51
Кураж	5,00	1,60	1,81	8,19
Ogione	5,00	1,60	1,81	8,19
Южный	4,90	1,30	2,30	7,50
Спринт	4,75	1,60	1,56	7,94
Аролло	4,57	1,30	1,96	7,17
Виола	4,50	1,60	1,31	7,69
Снежинка	4,50	1,60	1,31	7,69
Привольный 4	4,33	1,30	1,73	6,94
Жемчуг	4,25	1,60	1,06	7,44
Приморский	4,00	2,26	0,51	8,51
Гарант	4,00	1,60	0,81	7,19
Рапан (ст)	4,00	1,60	0,81	7,19

характеризовались более высокой скоростью роста по сравнению с итальянскими. Максимальная скорость формирования корневой системы характерна для сортов: Лиман, Arborio, Дальневосточный, Selenium, Oceano, Атлант, Musa, Фонтан, Cerege, Шарм, Серпантин, Ханкайский 52, Лидер, Боярин, Дружный (табл. 1). Масса корня в фазу созревания (при уборке) на низком фоне минерального питания ($N_{120}P_{60}K_{60}$) у сортов риса варьировала от 1,5 до 4,5 г.

Максимальной массой корня в фазу созревания характеризовались сорта: Карнизе, Рапан, Оникс, Г-57 (рис. 1).

Длина корня в фазу созревания у сортов риса варьировала от 17 до 26 см.

Максимальные значения отмечены у сортов: Д25-2, Г 75-5, Рыжик, Г-52, Крепыш, Снежинка (рис. 2).

Изучение полиморфизма российских и зарубежных сортов по маркерам, сцепленным с генами, определяющими эффективное использование фосфора, показало

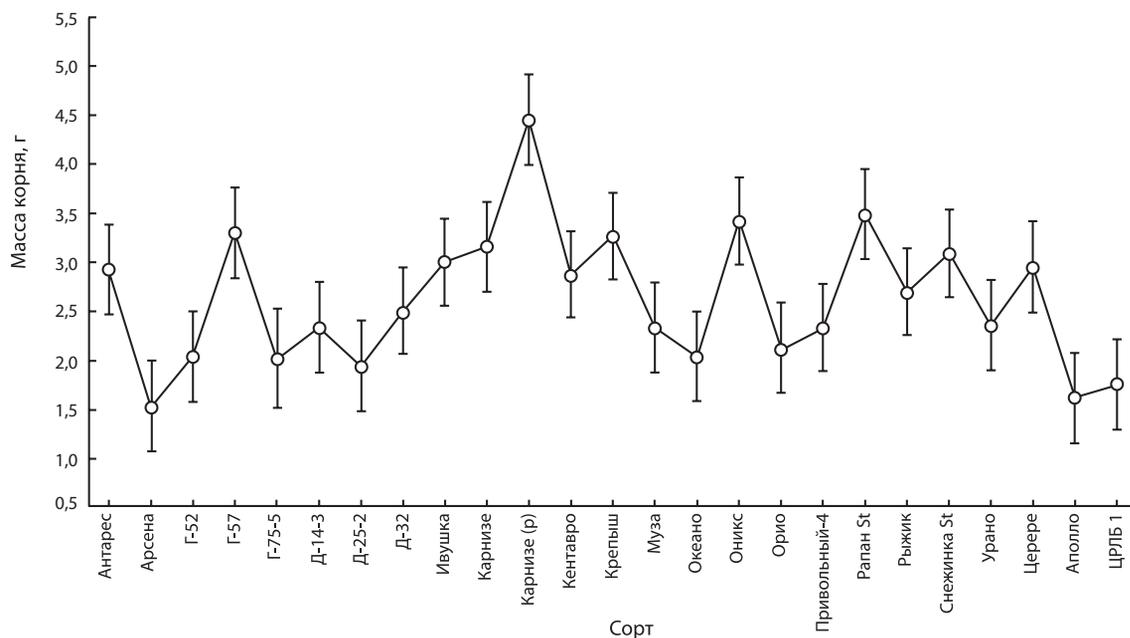


Рис. 1. Масса корня в фазу созревания у сортов риса на низком фоне минерального питания ($N_{120}P_{60}K_{60}$). Критерий Фишера $F(24, 1961) = 8,6045$; $p = 0,0000$. Вертикальные полосы показывают 0,95 %-й доверительный интервал.

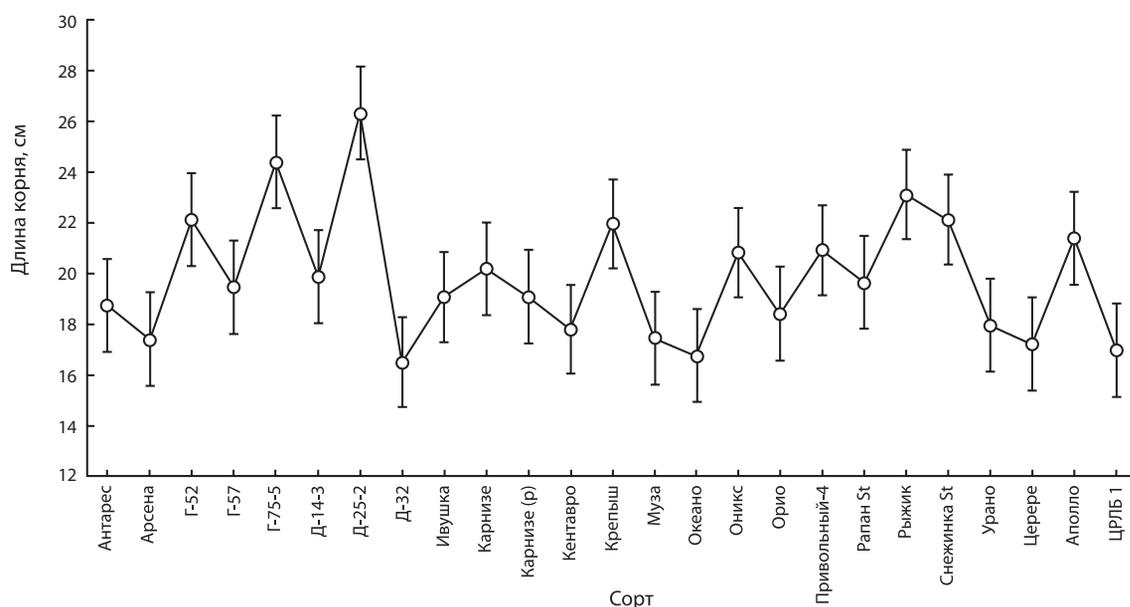


Рис. 2. Длина корня в фазу созревания у сортов риса на низком фоне минерального питания ($N_{120}P_{60}K_{60}$). Критерий Фишера $F(24, 1969) = 7,2523$; $p = 0,0000$. Вертикальные полосы показывают 0,95 %-й доверительный интервал.

наличие полиморфизма по всем изучаемым маркерам, что позволяет использовать их для маркерной селекции на признак. Максимальное число аллелей отмечено при использовании маркера RM 247, расположенного на хромосоме 12 (табл. 2, 3, рис. 3).

По маркеру RM 322 все российские сорта за исключением сортов Янтарь, Дальневосточный, Анаит – мономорфны. Маркер RM13 выявлял 3 аллеля, аллели с большей молекулярной массой, чем у большинства сортов,

несли: Павловский, Боярин, Регул, Янтарь, Дружный, Касун. Маркер RM 261 выявлял 2 аллеля, аллель с большей молекулярной массой несли три сорта: Садко, Новатор и Регул.

Обсуждение

Высокая скорость роста дает образцам преимущества при недостатке фосфорного питания, так как быстро формирующаяся корневая система обеспечивает более

Таблица 2. Полиморфизм российских и зарубежных сортов по маркерам связанным с генами, определяющими эффективное использование фосфора

SSR маркеры	Температура плавления °С*	Размер продукта, п.н.*	Хромосома*	Наличие полиморфизма
RM 322	55	112	2	Полиморфен , 2 аллеля
RM 13	55	141	5	Полиморфен, 3 аллеля
RM 247	55	131	12	Полиморфен, 6 аллелей
RM 261	55	125	5	Полиморфен, 2 аллеля
RM 19	55	226	12	Полиморфен, 4 аллеля (у зарубежных сортов)
RM 309	55	169	12	Полиморфен, 3 аллеля
RM 20	55	140	12	Полиморфен, 3 аллеля (4 у зарубежных сортов)

* Информация о ориентировочном размере ПЦР продуктов и рекомендуемой температуре плавления доступна на сайте www.gramene.org.

Таблица 3. Полиморфизм российских сортов по маркерам связанным с генами, определяющими эффективное использование фосфора

Маркеры	Сорта															
	Ханкайский	Садко	Приморский	Лиман	Гарант	Павловский	Рапан	Новатор	Серпантин	Боярин	Регул	Янтарь	Жемчуг	Лидер	Хазар	Аметист
RM247	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p
RM20	a	a	a	a	a	c	a	a	a	b	c	a	a	a	b	b
RM261	a	b	a	a	a	a	a	b	a	a	b	a	a	a	a	a
RM13	a	a	a	a	a	b	a	a	a	b	c	b	a	a	a	a
RM 322	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a
RM 19	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
RM 309	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a

Маркеры	Сорта															
	Нарцисс	Дружный	Спринт	Виола	Дальне-восточный	Фонтан	Касун	Юпитер	Атлант	Курчанка	Факел	Снежинка	Шарм	Анаит	Флагман	Изумруд
RM247	d	d	d	d	d	d	f	b	d	b	d	b	d	d	b	d
RM20	b	c	c	b	b	c	b	b	a	c	d	d	d	d	d	a
RM261	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
RM13	a	b	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a
RM 322	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a
RM 19	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
RM 309	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a

a-f –аллели

сбалансированное питание проростку за счет увеличения площади, с которой происходит поглощение. По литературным данным, эффективность поглощения фосфора у риса в основном определяется размерами корневой системы (Wissuwa, 2005; Wissuwa et al., 2005; Гончарова, 2010; Харитонов, Гончарова, 2011). В связи с этим при поиске источников по признаку особое внимание уделялось изучению именно этого показателя как на организменном, так и на молекулярном уровнях.

Хотя есть маркеры, перспективность применения которых в MAS (Marker Assistant Selection – селекция

с использованием маркеров) доказана, и есть доноры устойчивости, большинство известных доноров, помимо целевого гена, обладают рядом качеств, которые затрудняют их использование в селекции: позднеспелость, высокорослость, фоточувствительность, низкая урожайность, отсутствие адаптированности к местным условиям среды (Goncharova, 2010; Гончарова и др., 2010a). В связи с этим на первом этапе работы необходимо было проверить, нет ли подходящих доноров среди российских сортов. Большинство устойчивых генотипов риса превосходят коллекционные образцы только по одному или несколь-

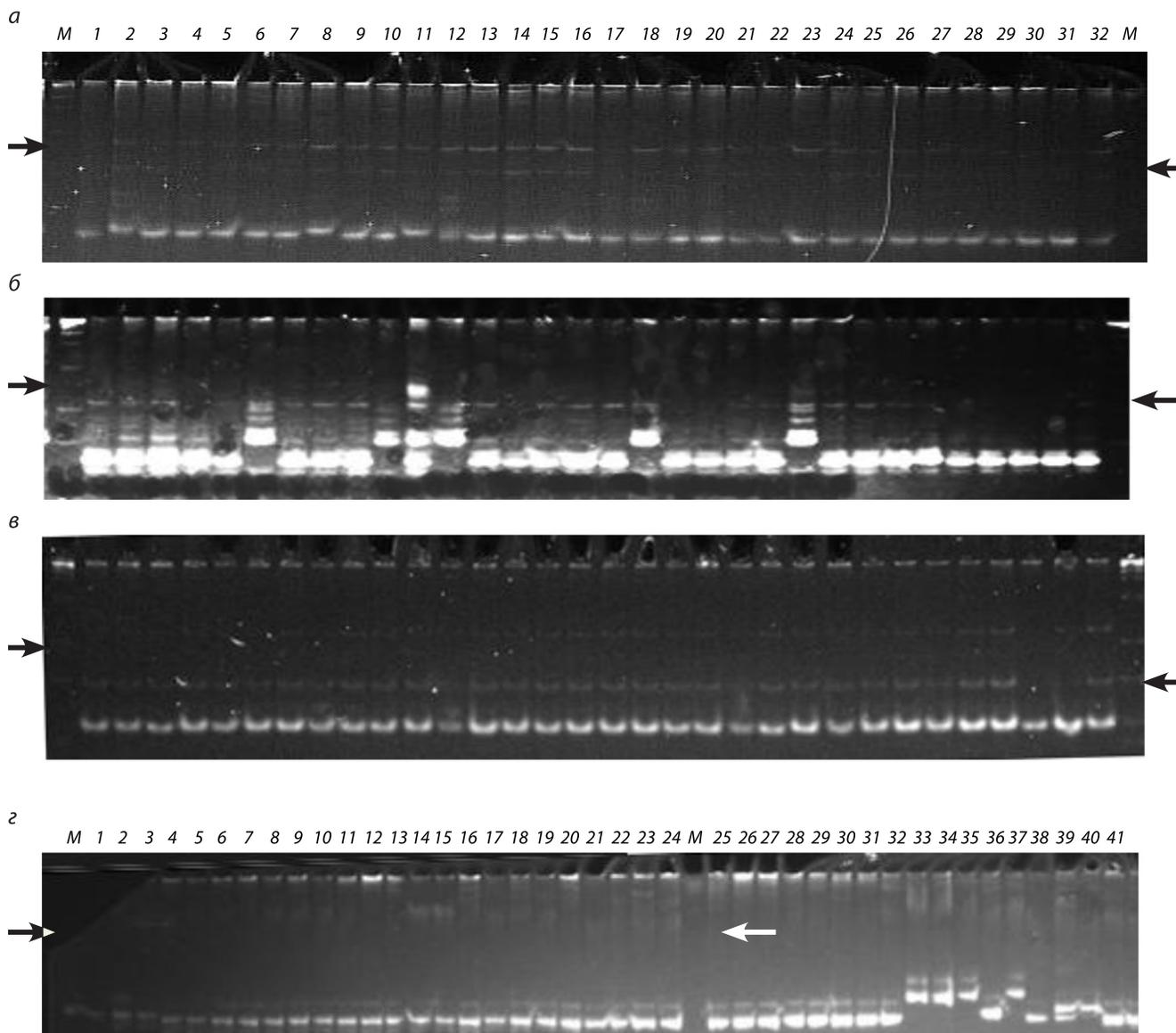


Рис. 3. Полиморфизм российских и зарубежных сортов по маркерам, связанным с генами, определяющими эффективное использование фосфора.

a – RM 261; б – RM 13; в – RM 322; г – RM 19. Слева направо расположены сорта российской и зарубежной селекции: 1 – Ханкайский, 2 – Садко, 3 – Приморский, 4 – Лиман, 5 – Гарант, 6 – Павловский, 7 – Рапан, 8 – Новатор, 9 – Серпантин, 10 – Боярин, 11 – Регул, 12 – Янтарь, 13 – Жемчуг, 14 – Лидер, 15 – Хазар, 16 – Аметист, 17 – Нарцисс, 18 – Дружный, 19 – Спринт, 20 – Виола, 21 – Дальневосточный, 22 – Фонтан, 23 – Касун, 24 – Юпитер, M – маркер молекулярной массы (показан стрелкой), 25 – Атлант, 26 – Курчанка, 27 – Факел, 28 – Снежинка, 29 – Шарм, 30 – Анаит, 31 – Флагман, 32 – Изумруд, 33 – IR 66, 34 – NSIC RC 158, 35 – IR68897B, 36 – IR 73328. 5 сортов-доноров генов WC (37 – Мороберикан, 38 – N 22, 39 – Азусена, 40 – Дулар, 41 – Тайпей 309).

ким признакам, определяющим адаптивность к стрессу (Харитонов, Гончарова, 2010). Как правило, известные доноры по самым различным признакам несут один или два локуса, определяющие его донорские качества, однако формирование признаков, определяющих адаптивность, происходит под влиянием полигенов (Гончарова и др., 2010б). Кроме того, в различных регионах мира устойчивость образцов может определяться различными генами с отличающимся механизмом ее формирования (Гончарова, Харитонов, 2012). Поэтому необходимо изучить выявляемые в российской генплазме доноры

по признаку для установления возможного наличия у них ранее не локализованных генов, определяющих признак.

Установленное нами наличие полиморфизма по всем изучаемым маркерам, связанным с признаком «эффективность поглощения фосфора», указывает на возможность их использования для маркерной селекции на признак, а также для отбора среди российских сортов источников по признаку. Поскольку показано, что сорт-донор и сорта, в которые планируется интрогрессировать локус, несут разные аллели, это обеспечит возможность выяв-

ления растений, несущих аллель донора по изучаемому признаку, с помощью электрофоретического разделения продуктов ПЦР.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-96532-р_юг_ц.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Гончарова Ю.К., Литвинова Е.В., Очкас Н.А. Генетика признаков, обеспечивающих эффективность минерального питания у риса. Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та. 2010б.
- Гончарова Ю.К. **Наследование признаков, определяющих физиологический базис гетерозиса у гибридов риса. С.-х. биология.** 2010;5:72-78.
- Гончарова Ю.К. Селективная элиминация аллелей при получении дигаллоидных линий в культуре пыльников риса. Генетика. 2013;49(2):196-203.
- Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М., Литвинова Е.В. **Природа гетерозисного эффекта.** Докл. РАСХН. 2010а;(4):10-11.
- Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. **Повышение продуктивности межподвидовых гибридов риса. Вавиловский журнал генетики и селекции.** 2012;16(4):556-565.
- Харитонов Е.М., Гончарова Ю.К. **Механизм солеустойчивости российских сортов риса. Аграрный вестн. Урала.** 2010;8(74):45-47.
- Харитонов Е.М., Гончарова Ю.К. Эффективность минерального питания риса. Докл. РАСХН. 2011;(2):10-12.
- Batjes N.H. A world data set of derived soil properties by FAO/UNESCO soil unit for global modeling. Soil Use Manage. 1997;13:9-16.
- Chin J.H., Gamuyao R., Dalid C., Bustamam M., Prasetyono J., Moel-jopawiro S., Wissuwa M., Heuer S. Developing Rice with High Yield under Phosphorus Deficiency: Pup1 Sequence to Application. Plant Physiology 2011;156:1202-1216.
- Dobermann A., Fairhurst T. Phosphorus deficiency. Rice: nutrient disorders and nutrient management. International Rice Res. Institute, Los Banos, Philippines. 2000.
- Fageria N.K., Baligar V.C. Upland rice genotypes evaluation for phosphorus use efficiency. J. Plant Nutr. 1997;20:499-509.
- Goncharova Y.K. Inheritance of heat resistance in rice. Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2011;1(3):248-251.
- Guimil S., Chang H.S., Zhu T., Sesma A., Osbourn A., Roux C., Ioannidis V., Oakeley E.J., Docquier M., Descombes P., Briggs S.P., Paszkowski U. Comparative transcriptomics of rice reveals an ancient pattern of response to microbial colonization. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2005;102:8066-8070.
- Hammond J.P., Broadley M.R., White P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency. Ann. Bot. 2004;94:323-332.
- Kirk G.D., George T., Courtois B., Senadhira D. Opportunities to improve phosphorus efficiency and soil fertility in rainfed lowland and upland rice ecosystems. Field Crops Res. 1998;56:73-92.
- Lambers H., Shane M.W., Cramer M.D., Pearse S.J., Veneklaas E.J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. Ann. Bot. 2006;98:693-713.
- Marschner P., Solaiman Z., Rengel Z. Rhizosphere properties of Poaceae genotypes under P-limiting conditions. Plant Soil. 2006;283:11-24.
- Misson J., Raghothama K.G., Jain A., Jouhet J., Block M. A., Bligny R., Ortet P., Creff A., Somerville S., Rolland N., Doumas P., Nacry P., Herrera -Estrella L., Nussaume L., Thibaud M.C. A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2005;102:11934-11939.
- Morcuende R., Bari R., Gibon Y., Zheng W., Pant B.D., Blasing O., Usadel B., Czechowski T., Udvardi M.K., Stitt M., Scheible W.R. Genome-wide reprogramming of metabolism and regulatory networks of Arabidopsis in response to phosphorus. Plant Cell Environ. 2007;30:85-112.
- Nguyen B.D., Brar D.S., Bui B.C., Nguyen T.V., Pham L.N., Nguyen H.T. Identification and mapping of the QTL for aluminum tolerance introgressed from the new source, *Oryzarufipogon* Griff., into indica rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 2003;106:583-593.
- Nguyen T.L., Bui C.B. Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). Omon Rice. 2006;14:1-9.
- Ni J.J., Wu P., Senadhira D., Huang N. Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 1998;97:1361-1369.
- Pariasca-Tanaka J., Satoh K., Rose T., Mauleon R., Wissuwa M. Stress response versus stress tolerance: a transcriptome analysis of two rice lines contrast in tolerance to phosphorus deficiency. Rice. 2009;2:167-185.
- Peng S., Ismail A.M. Physiological basis of yield and environmental adaptation in rice. (Eds H.T. Nguyen, A. Blum). Physiology and biotechnology integration for plant breeding. N.Y.: Marcel Dekker, 2004.
- Radersma S., Grierson P.F. Phosphorus mobilisation in agroforestry: organic anions, phosphatase activity and phosphorus fractions in the rhizosphere. Plant Soil. 2004;259:209-219.
- Rengel Z., Romheld V., Marschner H. Uptake of zinc and iron by wheat genotypes differing in tolerance to zinc deficiency. J. Plant Physiol. 1998;152:433-438.
- Richardson A.E., Hadobas P.A., Hayes J.E. Extracellular secretion of Aspergillus phytase from Arabidopsis roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. Plant J. 2001;256:641-649.
- Runge-Metzger A. Closing the cycle: obstacles to efficient P management for improved global food security. Tiessen H(ed) Phosphorus in the global environment: transfers, cycles and management. N.Y.: Wiley, 1995.
- Shane M.W., Lambers H. Cluster roots: a curiosity in context. Plant Soil. 2005;274:99-123.
- Shimizu A., Yanagihara S., Kawasaki S., Ikehashi H. Phosphorus deficiency – induced root elongation and its QTL in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 2004;109:1361-1368.
- Su J., Xiao Y., Li M., Liu Q., Li B., Tong Y., Jia J., Li Z. Mapping QTLs for phosphorus-deficiency tolerance at wheat seedling stage. Plant Soil. 2006;281:25-36.
- Suzuki M.T., Takashi T., Satoshi W., Shinpei M., Junshi Y., Naoki K., Shoshi K., Hiromi N., Satoshi M., Naoko K.N. Biosynthesis and secretion of mugineic acid family phytosiderophores in zinc deficient barley. Plant J. 2006;48:85-97.
- Wissuwa M. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. Plant Physiol. 2003;133:1947-1958.
- Wissuwa M. Combining a modeling with a genetic approach in establishing associations between genetic and physiological effects in relation to phosphorus uptake. Plant Soil. 2005;269:57-68.
- Wissuwa M., Ae N. Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. Plant Breeding. 2001;120:43-48.
- Wissuwa M., Gamat G., Ismail A.M. Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations. J. Exp. Bot. 2005;56:1943-1950.
- Wissuwa M., Wegner J., Ae N., Yano M. Substitution mapping of Pup1: a major QTL increasing phosphorus uptake of rice from a phosphorus-deficient soil. Theor. Appl. Genet. 2002;105:890-897.
- Xu Y., Crouch J.H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. Crop Sci. 2008;48:391-407.
- Ye G., Smith K.F. Marker-assisted Gene Pyramiding for Cultivar development. Plant Breed. Rev. 2010;33:234.
- Zhang Y.J., Dong Y.J., Zhang J.Z., Xiao K., Xu J.L., Terao H. Mapping QTLs for deficiency phosphorus response to root-growth of rice seedling. Rice Genetics Newsletter. 2006;25:36-37.

CAPS-маркеры в биологии растений

Ю.Н. Шавруков

Университет Аделаиды, отделение сельского хозяйства, питания и виноделия, Вайт Кампус, Хартли Гроув, Австралия

Возможности CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences – полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК) для решения широкого спектра задач биологии растений способствовали их широкому использованию в последние годы в генетике и селекции растений. В данном обзоре проведен анализ результатов применения CAPS-маркеров за последние 3–5 лет. Особое внимание уделено работам, связанным с изучением генов, контролирующих хозяйственно важные признаки у различных видов растений, а также примерам использования CAPS-маркеров в селекции растений. Обсуждение данных работ предваряется упоминанием основных принципов разработки и анализа CAPS-маркеров, а также рассмотрением достоинств и недостатков данного класса ДНК-маркеров. Использование CAPS-маркеров основано на амплификации фрагмента ДНК при помощи ПЦР со специфическими праймерами и дальнейшем гидролизе с помощью эндонуклеаз рестрикции, продукты которого разделяются с помощью электрофореза в агарозном геле. Функциональные CAPS-маркеры разрабатывают на основе известной нуклеотидной последовательности изучаемого гена для характеристики его строения, функции, экспрессии и регуляции. CAPS-маркеры, основанные на фрагментах ДНК, тесно сцепленных с изучаемыми генами, особенно полезны для маркер-ориентированной селекции (Marker-Assisted Selection, MAS) и широко используются в отборе на устойчивость пшеницы, ячменя, сои, картофеля, томатов и других культурных растений к фитопатогенам. CAPS-маркеры часто применяют при создании генетических карт, а также для точной локализации изучаемых генов. С их использованием были впервые созданы молекулярно-генетические карты некоторых видов растений и картирован целый ряд генов и локусов количественных признаков (QTL), контролирующих тип развития растений, устойчивость к фитопатогенам, качество зерна (у некоторых видов злаков) и форму плодов (у томата). Важное применение CAPS-маркеры находят в филогенетических исследованиях, при изучении генетического полиморфизма, особенно у близких видов. Таким образом, CAPS-маркеры представляют собой эффективный инструмент как в молекулярно-генетических исследованиях, так и в селекции растений.

Ключевые слова: генетика и селекция растений; ДНК-маркеры; полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК; CAPS; Cleaved Amplified Polymorphic Sequences.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Шавруков Ю.Н. CAPS-маркеры в биологии растений. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):205-213. DOI 10.18699/VJ15.026

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Shavrukov Y.N. CAPS markers in plant biology. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):205-213. DOI 10.18699/VJ15.026

DOI 10.18699/VJ15.026

УДК 575.22:633

Поступила в редакцию 15.01.2015 г.

Принята к публикации 13.03.2015 г.

© АВТОР, 2015

 e-mail: yuri.shavrukov@adelaide.edu.au

CAPS markers in plant biology

Y.N. Shavrukov

School of Agriculture, Food and Wine, University of Adelaide, Waite Campus, Hartley Grove, Australia

Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) markers are applicable in a wide range of tasks in plant biology. They have been developed for plant genetics and breeding and become especially useful. This mini-review analyzes information about the application of CAPS markers within the past 3–5 years. In the presented study, special attention is focused on CAPS markers linked with genes controlling important agricultural traits in different crops. The main principles of the development and analysis of CAPS markers, as well as advantages and disadvantages of this type of molecular markers, are briefly outlined in the beginning of this review. CAPS markers are based on PCR amplification of DNA fragments with specific primers followed by digestion with restriction enzymes and separation of the products in agarose gel. Functional CAPS markers can be developed on the known sequence of a gene of interest for the analyses of its structure, function, expression, and regulation. CAPS closely linked to the gene of interest are especially helpful for Marker-Assisted Selection, and they are widely used in the breeding of wheat, barley, soybean, potato, tomato, and other crops for tolerance to various pathogens. CAPS markers are often used for the preparation of genetic maps and fine mapping of studied genes. For some plants, first molecular-genetic maps were prepared using CAPS. This method was also successfully used for the mapping of both individual genes and QTLs controlling such important traits as plant growth habit, grain quality, and tolerance to pathogens in cereals, as well as the shape of tomato fruit. CAPS have important applications in the analyses of genetic polymorphism and phylogeny, particularly, in closely related species. Thus, CAPS are an effective tool for molecular-genetic research and plant breeding.

Key words: plant genetics and breeding; DNA markers; CAPS; Cleaved Amplified Polymorphic Sequences.

Молекулярные маркеры играют огромную роль в изучении наследования генов и их аллельного состояния, используются для анализа генетического полиморфизма и филогенетических отношений между видами, популяциями и отдельными индивидуумами, а также с целью выявления маркеров, тесно сцепленных с генами, контролирующими хозяйственно ценные признаки растений. В настоящее время существует огромное количество различных типов молекулярных маркеров, и их число постоянно увеличивается вместе с достижениями современных технологий и знаниями об отдельных генах и геномах растений в целом (Mohan et al., 1997; Хлесткина, Салина, 2006; Semagn et al., 2006; Henry, 2013; Poczai et al., 2013; Salgotra et al., 2014). Задачей настоящего мини-обзора является анализ опубликованных данных о разработке и применении единственной группы молекулярных маркеров, CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences – полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК), в генетических и селекционных исследованиях у различных видов растений.

Принцип действия CAPS-маркеров

CAPS-маркеры представляют собой обособленную группу хорошо изученных и успешно применяемых (особенно в биологии растений) маркеров. Принцип работы CAPS-маркеров достаточно прост и основан как минимум на трех последовательных этапах: 1) проведение ПЦР со специфическими праймерами; 2) гидролиз фрагментов амплификации (ампликонов) с помощью эндонуклеаз рестрикции и 3) последующее разделение продуктов гидролиза в агарозном геле. По сути, принцип действия CAPS-маркеров объединяет широко распространенный метод ПЦР с классическим методом ПДРФ (полиморфизм по длине рестрикционных фрагментов – Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP), но основан на амплификации небольшого фрагмента ДНК вместо использования всего генома (Heubl, 2010, 2013; Lu et al., 2010; Hu et al., 2014).

Первая публикация с описанием и применением CAPS-маркеров у арабидопсиса положила начало использованию этих маркеров у разных видов растений (Konieczny, Ausubel, 1993). С тех пор данный метод проверяли, адаптировали и использовали на различных представителях царства растений, в результате чего появились многочисленные модификации и изменения CAPS-анализа, более подходящие для решения тех или иных задач (Heubl, 2013; Hu et al., 2014; Liu et al., 2014). Подробнее основные принципы создания и работы CAPS-маркеров представлены на рисунке (см. Дополнительные материалы 1¹).

В настоящее время, когда метод ПЦР стал широко доступным, а в любой молекулярно-генетической лаборатории ПЦР является необходимой составляющей, проведение первого этапа для изучения CAPS-маркеров не представляет особого труда. Для изучения определенных генов, которые в научной литературе часто называют «генами интереса» (ГИ), разрабатываются и используются специфические праймеры. Наиболее часто разработка

праймеров основана на знании последовательности нуклеотидов в экзонах, которые являются более консервативными для ГИ. Поэтому желательно, чтобы фрагменты амплификации содержали интрон, в котором с большей вероятностью можно обнаружить полиморфизмы (Lee et al., 2012; Lim, Ha, 2013 и Доп. материалы 1). Тем не менее CAPS-маркеры можно успешно разрабатывать на любых фрагментах генома. Разработка праймеров может быть проведена на основе использования нуклеотидных последовательностей, опубликованных в открытой печати, доступных из баз данных, а также полученных в собственных экспериментах (Liu et al., 2012, 2014; Hu et al., 2014; Ince et al., 2014; Ui et al., 2015). Стоит отметить, что ампликон сам по себе как продукт амплификации может быть полиморфным по длине, если в нем присутствуют инсерции или делеции нуклеотидов (как правило, в интронной части генов или в межгенных некодирующих районах). Очевидно, что чем больше инсерция или делеция в ампликоне ГИ, тем легче и точнее идентифицировать ее при разделении в геле. Однако такой полиморфизм называется аллель-специфической ПЦР (АС-ПЦР – Allele-specific PCR, AS-PCR) и имеет лишь косвенное отношение к CAPS-маркерам, так как небольшие по размеру инсерции или делеции, трудно различимые при разделении продуктов амплификации в геле, можно использовать для поиска специфической эндонуклеазы и дальнейшей разработки эффективного CAPS-маркера (Heubl, 2013). Таким образом, амплификация специфического фрагмента ГИ как первый этап создания CAPS-маркера представляет собой обычную ПЦР (см. Доп. материалы 1).

Главной особенностью второго этапа (применение эндонуклеаз) является частота различий в нуклеотидной последовательности между изучаемыми образцами ДНК, которая зависит от их биологических особенностей. В основном такие различия между образцами представляют собой однонуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), а также инсерции или делеции (Insertion-Deletion, InDel) (Хлесткина, Салина, 2006; Jehan, Lakhnpaul, 2006; Hazarika et al., 2014; Wu et al., 2014; Jiang et al., 2015). Частота таких изменений в ДНК в значительной мере зависит от вида растений и популяции, а также от ГИ и даже от положения ампликона в геноме (интрон, экзон или некодирующие районы). Очевидно, что чем выше частота изменений в изучаемых образцах, тем проще и удобнее разработать эффективный CAPS-маркер.

Главной особенностью создания и использования CAPS-маркеров является то, что генетические изменения в нуклеотидной последовательности должны затрагивать сайты распознавания эндонуклеаз (см. Доп. материалы 1). В простейшем случае образец амплификации, у которого присутствует сайт рестрикции, после обработки специфической эндонуклеазой будет представлен двумя фрагментами, в то время как полиморфный образец с измененным сайтом распознавания эндонуклеазы после такой же обработки будет представлен единственным фрагментом. Суть CAPS-маркеров как раз и состоит в обнаружении таких измененных сайтов рестрикции на ампликоне (Heubl, 2013).

¹ Дополнительные материалы см. в Приложении 3 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2015-06/appx3.pdf>

Стоит отметить, что если в изучаемом ампликоне слишком много измененных сайтов рестрикции, то следует проводить работу по их оптимизации и выбору наиболее удобного CAPS-маркера или более дешевой эндонуклеазы. Однако работа становится более сложной при незначительном полиморфизме и ограниченном выборе эндонуклеаз, а также невозможной, если полиморфные изменения вообще не затронули сайты распознавания эндонуклеаз. В последнем случае была разработана модификация основного метода, dCAPS (derived CAPS), при котором предстоит разработать новые праймеры, преобразующие сайты рестрикции (Neff et al., 1998; Li et al., 2012, 2014).

Для точного определения генетических изменений в сайтах распознавания эндонуклеаз крайне желательно провести секвенирование амплифицированных фрагментов (Lu et al., 2010, 2013; Nakatsuka et al., 2012; Bogacki et al., 2013 и Доп. материалы 1). После этого вопрос об идентификации и выборе оптимального фермента рестрикции становится чисто техническим (Hazarika et al., 2014). Однако, как показывает практика, при отсутствии возможности секвенирования также возможно разрабатывать CAPS-маркеры, но в этом случае процесс становится более длительным и носит статистический характер. Так, например, у многих видов с высокой частотой SNP или инсерций/делений можно проводить предварительную проверку на наличие сайтов рестрикции со всеми имеющимися эндонуклеазами (Řepková et al., 2009; Liu et al., 2014). Хотя такой метод не является наиболее оптимальным, он может упростить работу, если сайт распознавания хотя бы одной эндонуклеазы оказался полиморфным. Традиционно продукты рестрикции разделяют в агарозном или полиакриламидном геле, но современные технологии позволяют использовать капиллярный электрофорез продуктов, помеченных флуоресцентной меткой (Perovic et al., 2013). Такой метод значительно ускоряет процесс идентификации фрагментов рестрикции у CAPS-маркеров в гораздо большем числе образцов.

Таким образом, в большинстве случаев при правильном выборе фрагмента амплификации практически у любого вида растений и при сравнении любых форм можно обнаружить, разработать и с успехом применять CAPS-маркеры для молекулярно-генетических исследований.

Достоинства и недостатки метода CAPS-маркеров

Более чем за 30 лет, прошедших с момента появления CAPS-маркеров, стали очевидны как преимущества, так и ограничения их использования. Одним из самых важных положительных качеств является кодоминантный тип их наследования, при котором не только гомо-, но и гетерозиготные генотипы четко отличаются друг от друга (см. Доп. материалы 1). Очень часто данное преимущество может иметь решающее значение для генетических исследований, при которых CAPS-маркеры можно использовать как дополнительное средство для более точного анализа. Так, например, DArT (Diversity Arrays Technology)-маркеры являются чрезвычайно эффективным методом для картирования ГИ (Kilian et al., 2005; Akbari et al., 2006), но они имеют доминантную природу, в связи с чем не могут быть выявлены отличия между гомозиготными ге-

нотипами с доминантными аллелями и гетерозиготными генотипами. Поэтому область локализации ГИ насыщают дополнительными маркерами, имеющими кодоминантный тип наследования (Akbari et al., 2006; Park et al., 2013). По этой же причине многие генетические карты основаны на объединении различных типов маркеров с максимальным разрешением и удобством для работы (Carlier et al., 2012; Gautami et al., 2012; D'Agostino et al., 2013; Hu et al., 2013; Gonzalez-Cendales et al., 2014; Jahani et al., 2014; Liu et al., 2014).

Другим преимуществом CAPS-маркеров является отсутствие необходимости использования дорогостоящего и сложного оборудования. Действительно, как отмечено выше, непосредственно для работы с CAPS-маркерами требуется лишь обычное оборудование для проведения ПЦР, термостат для гидролиза продуктов ПЦР и аппарат для электрофоретического разделения продуктов ПЦР в агарозном геле. Для сравнения, многие современные подходы, основанные на данных полного или частичного секвенирования геномов растений, невозможно применять без использования сложного, автоматизированного и дорогостоящего оборудования (Mammadov et al., 2012; Bevan, Uauy, 2013; Neelam et al., 2013; Wang et al., 2014).

Немаловажным преимуществом CAPS-маркеров является простота идентификации получаемых результатов, так как продукты гидролиза четко представлены всего одним или несколькими фрагментами в геле, а интерпретация результатов настолько проста, что доступна обслуживающему персоналу и студентам (см. Доп. материалы 1).

Тем не менее очевидны и ограничения при разработке и применении CAPS-маркеров. В первую очередь, к ним можно отнести отсутствие возможности автоматизировать трехэтапный процесс анализа на уровне среднего по сравнению с другими типами ДНК-маркеров (ПЦР, гидролиз и электрофорез), а также стоимость самого анализа. Последнее в основном связано с высокими ценами на некоторые уникальные и дорогостоящие эндонуклеазы и, разумеется, оптимизация выбора необходимой и недорогой эндонуклеазы для гидролиза может оказаться решающей для данного метода.

Следует также отметить, что CAPS-маркеры менее приемлемы для высокопродуктивной автоматизированной системы, например, с использованием роботов. Исключения могут составлять заранее проверенные CAPS-маркеры, для которых ПЦР и последующий гидролиз можно проводить в планшетах на 96 образцов или в системе «Multiplex» одновременно с несколькими парами праймеров, помеченными разными флуоресцентными метками, и капиллярным разделением продуктов амплификации и гидролиза (Perovic et al., 2013).

Совместимость CAPS с другими молекулярными маркерами

В последнее время наблюдается быстрый прогресс в работах по полному секвенированию геномов. К полностью секвенированным видам (арабидопсис и рис) в ближайшее время ожидается добавить такие хозяйственно важные виды, как ячмень, сорго, рапс, соя и многие другие. Какие новые возможности дает это исследователям при

разработке и использовании CAPS-маркеров? На основе данных полного или частичного секвенирования генома можно гораздо проще и точнее разрабатывать праймеры для ГИ и наиболее точно подбирать эндонуклеазы для гидролиза продуктов амплификации. В результате эффективность CAPS метода значительно повышается.

Несмотря на свою специфику, CAPS-маркеры успешно дополняют другие молекулярные маркеры (Salgotra et al., 2014). Современные научные технологии быстро и активно развиваются, но это не отрицает возможности использования ранее разработанных методов. Так, например, классические маркеры RFLP связаны с трудоемким и дорогостоящим анализом, требующим применения радиоактивной метки. Однако для некоторых случаев он оказывается совершенно незаменимым. В то же время популярный в последние годы метод секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing, NGS) основан на секвенировании и использовании огромного количества выделенных SNP (Single Nucleotide Polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм). Например, у пшеницы их число уже доведено до 90 000 (Wang et al., 2014) и продолжает постоянно расти. Очень часто CAPS-маркеры разрабатывают на основе технологии NGS-SNP, являющейся чрезвычайно результативным методом, особенно для маркер-ориентированной селекции (Marker-Assisted Selection, MAS) (Jun et al., 2012; Poczai et al., 2013; Salgotra et al., 2014). Специально для работы с SNP была создана роботизированная система «KASPar», что позволило выделить эффективные CAPS-маркеры к генам устойчивости к листовой ржавчине у пшеницы (Neelam et al., 2013) и маркеры для анализа геномов у томатов (D'Agostino et al., 2013) и цитрусовых (Hazarika et al., 2014).

В настоящее время в разработке CAPS-маркеров используют генотипирование на основе отдельных нуклеотидных последовательностей (Genotyping-by-Sequencing, GBS) (Salgotra et al., 2014) или результаты полного секвенирования генома (Whole Genome Sequencing, WGS), как, например, показано на сое (Jun et al., 2012) и у модельного злакового растения *Brachypodium* (Cui et al., 2012). При этом исследователю остается только найти генетический фрагмент, на котором локализован ГИ. На указанных выше примерах с помощью CAPS-маркеров, успешно разработанных на основе данных полного секвенирования геномов, показана точная локализация генов устойчивости к мучнистой росе у сои (Jun et al., 2012) и к вирусу штриховатой мозаики у *Brachypodium* (Cui et al., 2012). Метод анализа SNP, например, с помощью технологии «Illumina GoldenGate», оказался весьма эффективным и удобным для разработки новых CAPS-маркеров у разных растений (Cui et al., 2012; Hofmann et al., 2013). Весьма впечатляющими оказались результаты разработки 2458 эффективных CAPS-маркеров на основе высокопродуктивной технологии «IlluminaHiSeq 2000» у арбуза. При этом около половины разработанных CAPS-маркеров оказались полиморфными и удобными для дальнейших генетико-селекционных исследований, что примерно в 12 раз превышало число маркеров, разработанных во всех предшествующих исследованиях, проведенных на данном виде растений (Liu et al., 2014).

Для успешной разработки новых CAPS-маркеров на различных растениях успешно применяют другие технологии, такие как высокоточный анализ кривой плавления при амплификации (High-Resolution Melting Curve Analysis) (Jun et al., 2012; Kim et al., 2013; Tan et al., 2013), которые можно адаптировать к роботизированной системе в планшетах на 384 образца (Jun et al., 2012), а также к методу микрокапиллярного электрофореза с флюоресцентной меткой (Perovic et al., 2013).

Примеры использования CAPS-маркеров в биологии растений

Обширная информация по изучению, разработке и применению CAPS-маркеров у разных видов растений за последние годы представлена в таблице (см. Доп. материалы 2), а также изложена в недавно опубликованной книге (см. Доп. материалы 3).

Все данные по разработке и использованию CAPS-маркеров, представленные в таблице, можно разделить на три группы, в зависимости от целей исследования и доступности нуклеотидных последовательностей. Первую группу составляют наиболее продвинутые работы по созданию функциональных маркеров, основанных на известных нуклеотидных последовательностях (полных или частичных) ГИ. Отличительной особенностью данной группы является небольшое количество используемых CAPS-маркеров (2–3), так как этого достаточно, если разработанные маркеры функциональны и основаны на данных о нуклеотидных последовательностях изучаемых генов. В данной группе CAPS-маркеры используют для изучения строения, функции, экспрессии и регуляции ГИ, а также фенотипического проявления ГИ на растениях. В таблице (Доп. материалы 2) приведены лишь некоторые примеры таких функциональных CAPS-маркеров, разработанных и успешно применяемых на различных видах растений. В этой группе представлены функциональные CAPS-маркеры, основанные на данных о нуклеотидных последовательностях генов, контролирующих признаки качества зерна, такие как устойчивость крахмала к перевариванию (Yang et al., 2012), пониженное содержание фитиновой кислоты у риса (Tan et al., 2013), низкое содержание амилозы в зерне сорго (Lu et al., 2013), а также вес 1000 зерен у пшеницы (Jiang et al., 2015). Другие функциональные CAPS-маркеры связаны с генами контроля биосинтеза пигментов антоцианов в цветках горечавки и в зерне риса (Nakatsuka et al., 2012; Lim, Ha, 2013). Гены устойчивости к токсическому содержанию бора в почве и к мучнистой росе легли в основу создания функциональных CAPS-маркеров у люцерны (Bogacki et al., 2013) и гороха (Santo et al., 2013; Pavan et al., 2014). Стоит отметить, что часть работ проведена при исследовании природного полиморфизма в линиях, сортах и популяциях (Nakatsuka et al., 2012; Lim, Ha, 2013; Jiang et al., 2015), в то время как остальные публикации посвящены изучению мутантов и гибридных популяций, полученных на их основе (Yang et al., 2012; Bogacki et al., 2013; Lu et al., 2013; Santo et al., 2013; Tan et al., 2013; Pavan et al., 2014). В некоторых работах приводятся данные по изучению экспрессии ГИ (Bogacki et al., 2013; Lim, Ha, 2013), влияния регуляторных генов (Nakatsuka et al., 2012; Lim, Ha, 2013), а также

случаи появления преждевременных «стоп»-кодонов, укорачивающих производимый полипептид (Nakatsuka et al., 2012; Lu et al., 2013; Santo et al., 2013). В то же время во всех исследованиях были идентифицированы изменения в кодирующих районах ГИ, затрагивающие сайты рестрикции эндонуклеаз, и авторы успешно разработали и использовали функциональные CAPS-маркеры для анализа строения и экспрессии ГИ.

При создании функциональных CAPS-маркеров особое место занимают работы по изучению генов в гомеологических группах хромосом мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). В целом работать с аллополиплоидными видами, к которым принадлежит пшеница, гораздо сложнее, чем с диплоидными. Гексаплоидный геном мягкой пшеницы состоит из трех геномов, происходящих от разных видов, с незначительным полиморфизмом по трем гомеологическим копиям у многих генов. Поэтому гораздо сложнее обнаружить SNP у мягкой пшеницы, чем у таких диплоидных видов, как ячмень. Среди злаков геном пшеницы оценивается как один из наименее полиморфных, в нем частота обнаружения SNP примерно в 2,3–3,1 раза ниже, чем у ячменя (Shavrukov, 2014). Поэтому разработка CAPS-маркеров у мягкой пшеницы представляется особенно сложной задачей, и тем интереснее оказались результаты, полученные с помощью CAPS-маркеров на огромной коллекции сортов при изучении *TaCWI*, гена инвертазы в клеточной стенке, связанного с признаком веса зерна (Jiang et al., 2015). Авторам удалось точно локализовать ген на хромосомах 4A, 5B и 5D у разных гаплотипов, указать на архаичную генетическую транслокацию на хромосомах 4A-5A-7B и высчитать влияние направлений отбора по данному признаку за многолетнюю историю селекции пшеницы (Jiang et al., 2015). Тетраплоидная пшеница содержит только два генома, но работа по локализации и анализу ГИ сопряжена с теми же трудностями, что и у мягкой пшеницы. При исследовании дикого тетраплоидного вида *T. dicoccoides* с помощью CAPS-маркеров ученым удалось успешно идентифицировать, локализовать и полностью охарактеризовать гены, контролирующие такие хозяйственно важные признаки, как устойчивость к разным расам штриховатой мозаики (*Yr36*, *Yr15* и *YrH52*) и мучнистой росе (*PmG16* и *PmG3M*) (Raats et al., 2014). Успех исследовательской группы выразался в создании эффективных CAPS-маркеров, удобных для выделения, интрогрессии и контроля ГИ у селекционных материалов с использованием дикого вида. Авторы пришли к заключению, что CAPS-маркеры могут выступать в качестве «простого решения для анализа сложного генома» (Raats et al., 2014). Это может служить прекрасным примером успешной разработки и удачного применения CAPS-маркеров для изучения генов пшеницы.

Следующее направление, в котором широко используются CAPS-маркеры, – это MAS (Marker Assisted Selection – маркер-ориентированная селекция) по хозяйственно важным признакам. При этом нуклеотидная последовательность потенциальных ГИ может оставаться неизвестной. В данной группе представлены три обзора, посвященные анализу применения CAPS-маркеров для практической селекции на разных культурах. Так, например, результаты применения CAPS-маркеров в селекции

трех масличных культур (соя, подсолнечник и рапс) свидетельствуют об их высокой эффективности на данной группе растений, которые, с ботанической точки зрения, принадлежат к совершенно различным семействам – бобовых, сложноцветных и крестоцветных соответственно (Miladinović et al., 2014). Автор приводит и анализирует многочисленные примеры успешного применения маркер-ориентированной селекции на данных культурах с помощью CAPS-маркеров. О практическом применении CAPS-маркеров в селекции пивоваренного ячменя по различным признакам качества зерна сообщается в статье Iimure с соавт. (2014). Очевидно, что такие исследования представляют особый интерес для практической селекции, направленной на удовлетворение растущей потребности в качественном сырье для производства пива, и, как видно из статьи, японским селекционерам ячменя удалось добиться значительных успехов в его селекции с использованием CAPS-маркеров (Iimure et al., 2014). Еще одна работа посвящена анализу разработки и применения CAPS-маркеров у трав – райграсса, овсяницы и межвидовых гибридов между ними (Miura, 2014). Объект исследований в данном обзоре чрезвычайно интересен и важен для повышения продуктивности кормов. Однако с ботанико-генетической точки зрения, райграсс, овсяница и их межвидовые гибриды – очень сложные объекты, с особым генетическим контролем самонесовместимости и амфилоидной природой гибридов. Тем интереснее выглядят представленные в статье (Miura, 2014) результаты по разработке и успешному применению CAPS-маркеров у данных видов трав и их гибридов в маркер-ориентированной селекции на устойчивости к болезням и по признакам продуктивности и развития растений.

При проведении маркер-ориентированной селекции с использованием CAPS-маркеров чрезвычайно важной является работа с мутантами табака с низким содержанием никотина (Li et al., 2012, 2014). Всемирная организация здравоохранения и авторы статьи считают, что в обозримом будущем, помимо борьбы с курением, больше внимания будет уделено селекции табака с пониженным содержанием никотина. Li с соавт. (2012, 2014) приводят потрясающие результаты такой маркер-ориентированной селекции с использованием CAPS-маркеров на табаке. Авторам удалось выделить мутанты табака по трем ключевым генам, контролирующим пониженное содержание никотина в листьях, и доказать высокую эффективность использования CAPS-маркеров для идентификации данных мутаций и маркер-ориентированной селекции по ним (Li et al., 2012, 2014).

Несмотря на большое разнообразие исследований, связанных с применением CAPS-маркеров, основная часть этих работ нацелена на селекцию по признакам устойчивости к вирусам и болезням, а также к гербицидам. Однако при разработке CAPS-маркеров ученые решали задачи, специфические для каждого исследования и объекта. Например, среди растений сорного дикого сорго были выявлены образцы, устойчивые к гербициду FOP. После детального анализа было установлено, что все устойчивые растения имели точечную мутацию в гене ацетил-кофермент-А карбоксилазы, определяющую устойчивость к гербициду. Это было наглядно подтверждено

анализом большого числа образцов с помощью единственного CAPS-маркера (Scarabel et al., 2014). При изучении устойчивости пшеницы к гербициду IMI специально разработанный CAPS-маркер позволил точно изучить ареал распространения пыльцы с геном устойчивости (Beckie et al., 2012). Устойчивость к различным болезням является чрезвычайно важным признаком у разных культур, но гены, контролирующие данные признаки, как и их нуклеотидные последовательности, остаются пока неизвестными. Анализ публикаций, посвященных изучению устойчивости к вирусам и грибковым болезням (мучнистая роса и фитофтороз) у различных растений: репа, соя, дыня, картофель, томат и фасоль (Cho et al., 2012a; Jun et al., 2012; Kim et al., 2013; Lopez-Pardo et al., 2013; Panthee et al., 2013; Kumar et al., 2014; Pasev et al., 2014), позволяет сделать вывод о высокой эффективности использования правильно разработанных CAPS-маркеров. Это происходит независимо от типа изученного материала (селекционные линии, сорта, гибриды и популяции для картирования, в которых аллели генов устойчивости передавались либо от диких видов, либо от выделенных генотипов). Поэтому CAPS-маркер-ориентированная селекция по таким признакам остается достаточно важным инструментом в селекции растений. Результаты проведенных исследований являются прекрасной иллюстрацией анализа CAPS-маркеров и рекомендованы к применению в селекции по изучаемым признакам.

Еще одно направление, связанное с широким использованием CAPS-маркеров, включает исследование более общего плана, такие как составление генетических карт, локализация QTL (Quantitative Trait Loci – локусы количественных признаков) и вопросы филогенетических отношений между изучаемыми образцами (см. Доп. материалы 2). Ретроспективу развития исследований CAPS-маркеров для изучения мутантов и рекомбинантов у модельного растения арабидопсиса хорошо иллюстрирует обзор Kato с соавт. (2014). Основной целью работ в данном направлении является обнаружение максимального полиморфизма при использовании CAPS-маркеров. Это особенно важно для создания генетических карт (Carlier et al., 2012; Gautami et al., 2012; D'Agostino et al., 2013; Hu et al., 2013, 2014; Gonzalez-Cendales et al., 2014; Liu et al., 2014; Raats et al., 2014) и в дальнейшем для более точной локализации обнаруженного QTL (Hofmann et al., 2013; Jahani et al., 2014; Liu et al., 2014) или потенциального ГИ (Azhaguvel et al., 2012; Cho et al., 2012b; Cui et al., 2012; Song et al., 2012; Bang et al., 2013; Park et al., 2013; Chusreeaeom et al., 2014; Sabatini et al., 2014; Ui et al., 2015). На основе полиморфных маркеров, разработанных и представленных в данной группе, были установлены молекулярно-филогенетические взаимоотношения между изучаемыми образцами у разных видов растений (Amar et al., 2011; Hu et al., 2013, 2014; Ince et al., 2014). Чрезвычайно важное применение CAPS-маркеры нашли для определения генетического внутри- и межвидового полиморфизма у совершенно различных видов растений (Lee et al., 2012; Cheng, Stolt, 2014; Yatabe-Kakugawa, Ootsuki, 2014). Так, например, эндемичные для Китая виды крапивы (*Boehmeria*) и женьшеня (*Panax*) широко применяются для медицинских целей. Поэтому вполне понятны интерес

и ценность результатов изучения внутри- и межвидового полиморфизма, полученных с использованием CAPS-маркеров у данных видов (Lee et al., 2012; Cheng, Stolt, 2014). Дополнительно на основе такого полиморфизма по CAPS-маркерам уже разработаны и успешно применяются практические методы по проверке чистоты образцов женьшеня для фармакологических целей (Lu et al., 2010). По сравнению с описанными выше видами совершенно особую группу составляют папоротники, так как большую часть своей жизни они представляют собой гаплоидную, а не диплоидную форму растений. Тем не менее результаты изучения внутри- и межвидового полиморфизма у папоротников *Osmunda* и *Cyrtomium* наглядно показывают высокую эффективность разработки и применения CAPS-маркеров для данного типа исследований (Yatabe-Kakugawa, Ootsuki, 2014). Отдельно следует отметить их успешное применение для изучения микоризных грибов, обитающих на корнях древесных растений, что находит практическое применение в дендрологических исследованиях (García-González et al., 2014).

Все приведенные случаи являются примерами успешной разработки и эффективного применения CAPS-маркеров для генетических и селекционных исследований.

В последнее время наблюдается бурное развитие и внедрение методов анализа генома с помощью высокопроизводительного секвенирования и анализа полной нуклеотидной последовательности генома некоторых видов растений. Объем данных по секвенированию в базах данных растений постоянно увеличивается. Однако нередко ДНК-маркеры, в том числе CAPS, приходится использовать для решения задач, не требующих методов высокопроизводительного анализа, например, для изучения определенных участков генома или отдельных ГИ с целью их локализации и анализа аллельного полиморфизма. Каждый вид молекулярных маркеров имеет свои преимущества и ограничения, а также наиболее подходящие области применения, в зависимости от задачи исследования. Ученые вправе выбирать наиболее удобные маркеры. В этой связи за короткий период существования (с 1993 г.) CAPS-маркеры заняли достойное место, особенно в молекулярной биологии растений, и остаются достаточно эффективным и востребованным инструментом для решения задач современной генетики и селекции растений.

Благодарности

Автор благодарит д-ра Julie Hayes за критические замечания и помощь в оформлении рукописи.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Хлесткина Е.К., Салина Е.А. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы. Генетика. 2006;42(6):725-736.
- Akbari M., Wenzl P., Caig V., Carling J., Xia L., Yang S., Uszynski G., Mohler V., Lehmsiek A., Kuchel H., Hayden M.J., Howes N., Sharp P., Vaughan P., Rathmell B., Huttner E., Kilian A. Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexa-

- ploid wheat genome. *Theor. Appl. Genet.* 2006;113(8):1409-1420. DOI: 10.1007/s00122-006-0365-4
- Amar M.H., Biswas M.K., Zhang Z., Guoa W.W. Exploitation of SSR, SRAP and CAPS-SNP markers for genetic diversity of Citrus germplasm collection. *Sci. Hortic.* 2011;128(3):220-227. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.01.021
- Azhaguvel P., Rudd J.C., Ma Y., Luo M.C., Weng Y. Fine genetic mapping of greenbug aphid-resistance gene *Gb3* in *Aegilops tauschii*. *Theor. Appl. Genet.* 2012;124(3):555-564. DOI: 10.1007/s00122-011-1728-z
- Bang H., Kim S., Park S.O., Yooa K.S., Patil B.S. Development of a codominant CAPS marker linked to the *Ms* locus controlling fertility restoration in onion (*Allium cepa* L.). *Sci. Hortic.* 2013;153:42-49. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.01.020
- Beckie H.J., Warwick S.L., Hall L.M., Harker K.N. Pollen-mediated gene flow in wheat fields in Western Canada. *AgBioForum.* 2012;15(1):36-43.
- Bevan M.W., Uauy C. Genomics reveals new landscapes for crop improvement. *Genome Biol.* 2013;14(6):206. DOI: 10.1186/gb-2013-14-6-206
- Bogacki P., Peck D.M., Nair R.M., Howie J., Oldach K.H. Genetic analysis of tolerance to Boron toxicity in the legume *Medicago truncatula*. *BMC Plant Biol.* 2013;13:54. DOI: 10.1186/1471-2229-13-54
- Carlier J.D., Sousa N.H., Santo T.E., d'Eeckenbrugge G.C., Leitão J.M. A genetic map of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) including SCAR, CAPS, SSR and EST-SSR markers. *Mol. Breeding.* 2012;29(1):245-260. DOI: 10.1007/s11032-010-9543-9
- Cheng A., Ismail I., Osman M., Hashim H. Simple and rapid molecular techniques for identification of amylose levels in rice varieties. *Intern. J. Mol. Sci.* 2012;13(5):6156-6166. DOI: 10.3390/ijms13056156
- Cheng C.M., Stolt P. Basic and applied research on *Boehmeria* (ramie) utilising CAPS marker technology. *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology.* Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Cho K.H., Park S.H., Kim K.T., Kim S., Kim J.S., Park B.S., Woo J.G., Lee H.J. Mapping quantitative trait loci (QTL) for clubroot resistance in *Brassica rapa* L. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 2012a;87(4):325-333.
- Cho Y., Lee Y.P., Park B.S., Han T.H., Kim S. Construction of a high-resolution linkage map of *Rfd1*, a restorer-of-fertility locus for cytoplasmic male sterility conferred by DCGMS cytoplasm in radish (*Raphanus sativus* L.) using synteny between radish and *Arabidopsis* genomes. *Theor. Appl. Genet.* 2012b;125(3):467-477. DOI: 10.1007/s00122-012-1846-2
- Chusreeaom K., Ariizumi T., Asamizu E., Okabe Y., Shirasawa K., Ezura H. A novel tomato mutant, *Solanum lycopersicum elongated fruit1* (*Slelf1*), exhibits an elongated fruit shape caused by increased cell layers in the proximal region of the ovary. *Mol. Genet. Genom.* 2014;289(3):399-409. DOI: 10.1007/s00438-014-0822-8
- Cui Y., Lee M.Y., Huo N., Bragg J., Yan L., Yuan C., Li C., Holditch S.J., Xie J., Luo M.C., Li D., Yu J., Martin J., Schackwitz W., Gu Y.Q., Vogel J.P., Jackson A.O., Liu Z., Garvin D.F. Fine mapping of the *Bsr1* barley stripe mosaic virus resistance gene in the model grass *Brachypodium distachyon*. *PLoS ONE.* 2012;7(6):e38333. DOI: 10.1371/journal.pone.0038333
- D'Agostino N., Golas T., van de Geest H., Bombarely A., Dawood T., Zethof J., Driedonks N., Wijnker E., Bargsten J., Nap J.P., Mariani C., Rieu I. Genomic analysis of the native European *Solanum* species, *S. dulcamara*. *BMC Genomics.* 2013;14:356. DOI: 10.1186/1471-2164-14-356
- García-González R., Alday C.C., Ruz P.C., Gálvez B.C., Rodríguez A.D.A., Berríos M., Villagra E., González G., Gordillo F., Caligari P.D.S. Versatility of CAPS markers: Agriculture and forestry applications. *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology.* Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Gautami B., Foncéca D., Pandey M.K., Moretzsohn M.C., Sujay V., Qin H., Hong Y., Faye I., Chen X., BhanuPrakash A., Shah T.M., Gowda M.V.C., Nigam S.N., Liang X., Hoisington D.A., Guo B., Bertoli D.J., Rami J.F., Varshney R.K. An international reference consensus genetic map with 897 marker loci based on 11 mapping populations for tetraploid groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *PLoS ONE.* 2012;7(7):e41213. DOI: 10.1371/journal.pone.0041213
- Gonzalez-Cendales Y., Huong D.T.T., Lim G.T.T., McGrath D.J., Catanzariti A.M., Jones D.A. Application of CAPS markers to the mapping and marker-assisted breeding of genes for resistance to Fusarium wilt in tomato. *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology.* Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Hazarika T.K., Hazarika B.N., Shukla A.C. Genetic variability and phylogenetic relationships studies of genus *Citrus* L. with the application of molecular markers. *Genetic Res. Crop Evol.* 2014;61(8):1441-1454. DOI: 10.1007/s10722-014-0188-0
- Henry R.J. (Ed.) *Molecular Markers in Plants.* Wiley Blackwell: New Delhi. 2013.
- Heubl G. New aspects of DNA-based authentication of Chinese medicinal plants by molecular biological techniques. *Planta Medica.* 2010;76(17):1963-1974.
- Heubl G. DNA-based authentication of TCM-plants: current progress and future perspectives. Evidence and National Based Research on Chinese Drugs. Eds H. Wagner, G. Ulrich-Merzenich. Vienna: Springer Vienna, 2013.
- Hofmann K., Silvar C., Casas A.M., Herz M., Büttner B., Gracia M.P., Contreras-Moreira B., Wallwork H., Igartua E., Schweizer G. Fine mapping of the *Rrs1* resistance locus against scald in two large populations derived from Spanish barley landraces. *Theor. Appl. Genet.* 2013;126(12):3091-3102. DOI: 10.1007/s00122-013-2196-4
- Hu C.Y., Lee T.C., Tsai H.T., Tsai Y.Z., Lin S.F. Construction of an integrated genetic map based on maternal and paternal lineages of tea (*Camellia sinensis*). *Euphytica.* 2013;191(1):141-152. DOI: 10.1007/s10681-013-0908-0
- Hu C.Y., Tsai Y.Z., Lin S.F. Development of STS and CAPS markers for variety identification and genetic diversity analysis of tea germplasm in Taiwan. *Botanical Studies.* 2014;55(1):12. DOI: 10.1186/1999-3110-55-12
- Iimure T., Zhou T.S., Hoki T. Development of CAPS markers and its use for malting barley breeding. *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology.* Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Ince A.G., Karaca M., Elmasulu S.Y. New microsatellite and CAPS-microsatellite markers for clarifying taxonomic and phylogenetic relationships within *Origanum* L. *Mol. Breeding.* 2014;34(2):643-654. DOI: 10.1007/s11032-014-0064-9
- Jahani M., Nematzadeh G., Dolatabadi B., Hashemi S.H., Mohammadi-Nejad G. Identification and validation of functional markers in a global rice collection by association mapping. *Genome.* 2014;57(6):355-362. DOI: 10.1139/gen-2014-0044
- Jehan T., Lakhnypaul S. Single nucleotide polymorphism (SNP) – methods and applications in plant genetics: a review. *Indian J. Biotechnol.* 2006;5(4):435-459.
- Jiang Y., Jiang Q., Hao C., Hou J., Wang L., Zhang H., Zhang S., Chen X., Zhang X. A yield-associated gene *TaCWI*, in wheat: its function, selection and evolution in global breeding revealed by haplotype analysis. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128(1):131-143. DOI: 10.1007/s00122-014-2417-5
- Julián O., Herráiz J., Corella S., di-Lolli I., Soler S., Díez M.J., Pérez-de-Castro A. Initial development of a set of introgression lines from *Solanum peruvianum* PI 126944 into tomato: Exploitation of resistance to viruses. *Euphytica.* 2013;193(2):183-196. DOI: 10.1007/s10681-013-0896-0
- Jun T.H., Mian M.A.R., Kang S.T., Michel A.P. Genetic mapping of the powdery mildew resistance gene in soybean PI 567301B. *Theor. Appl. Genet.* 2012;125(6):1159-1168. DOI: 10.1007/s00122-012-1902-y
- Kato T., Toyota M., Tasaka M., Morita M.T. Mini-history of map-based cloning in *Arabidopsis* // *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology.* Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.

- Kilian A., Huttner E., Wenzl P., Jaccoud D., Carling J., Caig V., Evers M., Heller-Uszynska K., Cayla C., Patarapuwadol S., Xia L., Yang S., Thomson B. The fast and the cheap: SNP and DArT-based whole genome profiling for crop improvement. In the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution. Proceedings of the International Congress. 27–31 May, 2003. Ed. R. Tuberosa, R.L. Phillips, M. Gale. Avenue Media: Bologna, Italy, 2005;443-461.
- Kim K.H., Ahn S.G., Hwang J.H., Choi Y.M., Moon H.S., Park Y.H. Inheritance of resistance to powdery mildew in the watermelon and development of a molecular marker for selecting resistant plants. Hort. Environ. Biotechnol. 2013;54(2):134-140. DOI: 10.1007/s13580-013-0156-1
- Konieczny A., Ausubel F.M. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. Plant J. 1993;4(2):403-410. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1993.04020403.x
- Kumar A., Tiwari K.L., Datta D., Singh M. Marker assisted gene pyramiding for enhanced *Tomato leaf curl virus* disease resistance in tomato cultivars. Biol. Plantarum. 2014;58(4):792-797. DOI: 10.1007/s10535-014-0449-y
- Lee J.W., Bang K.H., Kim Y.C., Seo A.Y. Jo I.H., Lee J.H., Kim O.T., Hyun D.Y., Cha S.W., Cho J.H. CAPS markers using mitochondrial consensus primers for molecular identification of *Panax* species and Korean ginseng cultivars (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Mol. Biol. Rep. 2012;39(1):729-736. DOI: 10.1007/s11033-011-0792-4
- Li D., Lewis R.S., Jack A.M., Dewey R.E., Bowen S.W., Miller R.D. Development of CAPS and dCAPS markers for CYP82E4, CYP82E5v2 and CYP82E10 gene mutants reducing nicotine to nicotine conversion in tobacco. Mol. Breeding. 2012;29(3):589-599. DOI: 10.1007/s11032-011-9575-9
- Li D., Bao Y., Wu X., Jack A., Yang S. The use of CAPS and dCAPS markers in marker-assisted selection for tobacco breeding. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Lim S.H., Ha S.H. Marker development for the identification of rice seed color. Plant Biotechnol. Rep. 2013;7(3):391-398. DOI: 10.1007/s11816-013-0276-1
- Liu Z., Crampton M., Todd A., Kalavacharla V. Identification of expressed resistance gene-like sequences by data mining in 454-derived transcriptomic sequences of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). BMC Plant Biol. 2012;12:42. DOI: 10.1186/1471-2229-12-42
- Liu S., Gao P., Wang X., Davis A.R., Baloch A.M., Luan F. Mapping of quantitative trait loci for lycopene content and fruit traits in *Citrullus lanatus*. Euphytica. 2014. DOI: 10.1007/s10681-014-1308-9
- Lopez-Pardo R., Barandalla L., Ritter E., de Galarreta J.I.R. Validation of molecular markers for pathogen resistance in potato. Plant Breeding. 2013;132(3):246-251. DOI: 10.1111/pbr.12062
- Lu K.T., Lee H.C., Liu F.S., Lo C.F., Lin J.H. Identification of Ginseng Radix in Chinese medicine preparations by nested PCR-DNA sequencing method and nested PCR-restriction fragment length polymorphism. J. Food Drug Analysis. 2010;18(1):58-63.
- Lu Y., Zhao G., Li Y., Fan J., Ding G., Zhao J., Ni X., Wang W. Identification of two novel waxy alleles and development of their molecular markers in sorghum. Genome. 2013;56(5):283-288. DOI: 10.1139/gen-2013-0047
- Mammadov J., Aggarwal R., Buyyarapu R., Kumpatla S. SNP markers and their impact on plant breeding. Intern. J. Plant Genom. 2012;2012:728398. DOI: 10.1155/2012/728398
- Miladinović D., Imerovski I., Dimitrijević A., Jocić S. CAPS markers in breeding of oil crops. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Miura Y. Development of CAPS markers and their use in breeding of ryegrasses and related species. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R., Sasaki T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. Mol. Breeding. 1997;3(2):87-103. DOI: 10.1023/A:1009651919792
- Nakatsuka T., Saito M., Sato-Ushiku Y., Yamada E., Nakasato T., Hoshi N., Fujiwara K., Hikage T., Nishihara M. Development of DNA markers that discriminate between white- and blue-flowers in Japanese gentian plants. Euphytica. 2012;184(3):335-344. DOI: 10.1007/s10681-011-0534-7
- Neelam K., Brown-Guedira G., Huang L. Development and validation of a breeder-friendly KASPar marker for wheat leaf rust resistance locus *Lr21*. Mol. Breeding. 2013;31(1):233-237. DOI: 10.1007/s11032-012-9773-0
- Neff M.M., Neff J. D., Chory J., Pepper A.E. dCAPS, a simple technique for the genetic analysis of single nucleotide polymorphisms: experimental applications in *Arabidopsis thaliana* genetics. Plant J. 1998;14(3):387-392. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1998.00124.x
- Okoń S., Kowalczyk K., Miazga D. Identification of *Ppd-B1* alleles in common wheat cultivars by CAPS marker. Генетика. 2012;48(5):628-633. DOI: 10.1134/S102279541205016X
- Panthee D.R., Brown A.F., Yousef G.G., Ibrahim R., Anderson C. Novel molecular marker associated with *Tm2a* gene conferring resistance to tomato mosaic virus in tomato. Plant Breeding. 2013;132(4):413-416. DOI: 10.1111/pbr.12076
- Park J., Bang H., Cho D.Y., Yoon M.K., Patil B.S., Kim S. Construction of high-resolution linkage map of the *Ms* locus, a restorer-of-fertility gene in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica. 2013;192(2):267-278. DOI: 10.1007/s10681-012-0851-5
- Pasev G., Kostova D., Sofkova S. Identification of genes for resistance to *Bean common mosaic virus* and *Bean common mosaic necrosis virus* in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding lines using conventional and molecular methods. J. Phytopathol. 2014;162(1):19-25. DOI: 10.1111/jph.12149
- Pavan S., Schiavulli A., Lotti C., Ricciardi L. CAPS technology as a tool for the development of genic and functional markers: Study in peas. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Perovic J., Silvar C., Koenig J., Stein N., Perovic D., Ordon F. A versatile fluorescence-based multiplexing assay for CAPS genotyping electrophoresis systems. Mol. Breeding. 2013;32(1):61-69. DOI: 10.1007/s11032-013-9852-x
- Poczai P., Varga L., Laos M., Cseh A., Bell N., Valkonen J.P.T., Hyvönen J. Advances in plant gene-targeted and functional markers: A review. Plant Methods. 2013;9(1):6. DOI: 10.1186/1746-4811-9-6
- Raats D., Yaniv E., Distelfeld A., Ben-David R., Shanir J., Bocharova V., Schulman A., Fahima T. Application of CAPS markers for genomic studies in wild emmer wheat. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Řepková J., Dreiseitl A., Lízal P. New CAPS marker for selection of barley powdery mildew resistance gene in the *Mla* locus. Cereal Research Communications. 2009;37(1):93-99. DOI: 10.1556/CRC.37.2009.1.11
- Sabatini E., Palma D., Ciriaci T., Acciarri N. Development and applications of CAPS markers in tomato breeding: Successful story about *OVATE* gene. Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Salgotra R.K., Gupta B.B., Stewart J.C.N. From genomics to functional markers in the era of next-generation sequencing. Biotechnology Letters. 2014;36(3):417-426. DOI: 10.1007/s10529-013-1377-1
- Santo T., Rashkova M., Alabaça C., Leitão J. The ENU-induced powdery mildew resistant mutant pea (*Pisum sativum* L.) lines *S(er1mut1)* and *F(er1mut2)* harbour early stop codons in the *PsMLO1* gene. Mol. Breeding. 2013;32(3):723-727. DOI: 10.1007/s11032-013-9889-x
- Scarabel L., Panozzo S., Savoia W., Sattin M. Target-site ACCase-resistant johnsongrass (*Sorghum halepense*) selected in summer dicot crops. Weed Technology. 2014;28(2):307-315. DOI: 10.1614/WT-D-13-00137.1

- Semagn K., Bjørnstad A, Ndjioudjop M.N. An overview of molecular marker methods for plants. *Afr. J. Biotechnol.* 2006;5(25):2540-2568. DOI: 10.5897/AJB2006.000-5110
- Shavrukov Y. Why are the development and application of CAPS markers so different in bread wheat compared to barley? *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology*. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.
- Shavrukov Y., Gupta N.K., Miyazaki J., Baho M.N., Chalmers K.J., Tester M., Langridge P., Collins N.C. *HvNax3* – a locus controlling shoot sodium exclusion derived from wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*). *Functional and Integrative Genomics*. 2010;10(2):277-291. DOI: 10.1007/s10142-009-0153-8
- Smyda P., Jakuczun H., Debski K., Śliwka J., Thieme R., Nachtigall M., Wasilewicz-Flis I., Zimnoch-Guzowska E. Development of somatic hybrids *Solanum* × *michoacanum* Bitter. (Rydb.) (+) *S. tuberosum* L. and autofused 4x *S.* × *michoacanum* plants as potential sources of late blight resistance for potato breeding // *Plant Cell Rep.* 2013;32(8):1231-1241. DOI: 10.1007/s00299-013-1422-5.
- Song X., Deng Z., Gong L., Hu J., Ma Q. Cloning and characterization of resistance gene candidate sequences and molecular marker development in gerbera (*Gerbera hybrida*). *Sci. Hortic.* 2012;145:68-75. DOI: 10.1016/j.scienta.2012.07.027
- Tan Y.Y., Fu H.W., Zhao H.J., Lu S., Fu J.J., Li Y.Fa., Cui H.R., Shu Q.Y. Functional molecular markers and high-resolution melting curve analysis of low phytic acid mutations for marker-assisted selection in rice. *Mol. Breeding*. 2013;31(3):517-528. DOI: 10.1007/s11032-012-9809-5
- Ui H., Sameri M., Pourkheirandish M., Chang M.C., Shimada H., Stein N., Komatsuda T., Handa H. High-resolution genetic mapping and physical map construction for the fertility restorer *Rfm1* locus in barley. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128(2):283-290. DOI: 10.1007/s00122-014-2428-2
- Wang S., Wong D., Forrest K., Allen A., Chao S., Huang B.E., Maccaferri M., Salvi S., Milner S.G., Cattivelli L., Mastrangelo A.M., Whan A., Stephen S., Barker G., Wieseke R., Plieske J., Lillemo M., Mather D., Appels R., Dolferus R., Brown-Guedira G., Korol A., Akhunova A.R., Feuillet C., Salse J., Morgante M., Pozniak C., Luo M.C., Dvorak J., Morel M., Dubcovsky J., Ganai M., Tuberosa R., Lawley C., Mikoulitch I., Cavanagh C., Edwards K.J., Hayden M., Akhunov E. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnol. J.* 2014;12(6):787-796. DOI: 10.1111/pbi.12183
- Wu J., Cao X., Guo L., Qi T., Wang H., Tang H., Zhang J., Xing C. Development of a candidate gene marker for *Rf₁* based on a *PPR* gene in cytoplasmic male sterile CMS-D2 Upland cotton. *Breeding*. 2014;34(1):231-240. DOI: 10.1007/s11032-014-0032-4
- Yang R., Sun C., Bai J., Luo Z., Shi B., Zhang J., Yan W., Piao Z. A putative gene *sbe3-rs* for resistant starch mutated from *SBE3* for starch branching enzyme in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS ONE*. 2012;7(8):e43026. DOI: 10.1371/journal.pone.0043026
- Yatabe-Kakugawa Y., Ootsuki R. Development and analysis of CAPS markers in ferns. *Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) Markers in Plant Biology*. Ed. Y. Shavrukov. NOVA Publisher: N.Y., 2014.

Внутрисуточный ритм секреции глюкокортикоидов и динамика генного ответа

В.М. Меркулов¹, Н.В. Климова¹, Т.И. Меркулова^{1, 2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Секреция глюкокортикоидных гормонов (кортизола у людей и кортикостерона у грызунов) надпочечниками в течение суток имеет пульсирующий характер, с периодом примерно в 1 ч (ультрадианный, или внутрисуточный ритм), что находит отражение в содержании их в плазме и межклеточной жидкости. Однако подавляющее большинство исследований по регуляции экспрессии генов глюкокортикоидами выполнено без учета внутрисуточных колебаний гормонального уровня с использованием синтетических гормонов (дексаметазон, триамценолон), характеризующихся на порядок более прочными комплексами с рецептором глюкокортикоидов (ГР), чем природные гормоны. В настоящем обзоре собраны результаты пока немногочисленных исследований, проведенных с помощью воспроизводящей ультрадианный ритм обработки природными глюкокортикоидами как культур клеток, так и адrenaлэктомированных животных. Анализ этих данных показывает, что в условиях физиологических пульсаций природных гормонов наблюдаются аналогичные часовые пульсации в связывании ГР со своими сайтами на ДНК (GREs) в ядрах клеток и такие же пульсации экспрессии генов на уровне первичных транскриптов как в культуре клеток, так и в разных органах экспериментальных животных. В противоположность этому, в результате циклической обработки синтетическим глюкокортикоидом дексаметазоном, так же как и в случае постоянного присутствия как природных, так и синтетических глюкокортикоидов, никаких пульсаций не происходит. Кроме того, количество зрелой мРНК исследованных генов оказывается существенно ниже в случае циклической обработки природными глюкокортикоидами по сравнению с циклическим введением дексаметазона или постоянным присутствием гормонов. Авторы проведенных исследований выдвигают предположение о том, что пульсация генов имеет большое значение для формирования правильного ответа на глюкокортикоидные гормоны и что постоянная гормональная стимуляция может приводить к искажению характера транскриптома клеток-мишеней и, следовательно, вызывать нежелательные физиологические последствия.

Ключевые слова: глюкокортикоидные гормоны; внутрисуточный ритм; гены-мишени; транскрипция; динамика.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Меркулов В.М., Климова Н.В., Меркулова Т.И. Внутрисуточный ритм секреции глюкокортикоидов и динамика генного ответа. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):214-221. DOI 10.18699/VJ15.027

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Merkulov V.M., Klimova N.V., Merkulova T.I. The ultradian rhythm of glucocorticoid secretion and the time course of target gene regulation. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and

The ultradian rhythm of glucocorticoid secretion and the time course of target gene regulation

V.M. Merkulov¹, N.V. Klimova¹, T.I. Merkulova^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Glucocorticoid hormones (cortisol in humans and corticosterone in rodents) are secreted in discrete pulses during a day with a periodicity of approximately 1 h (ultradian rhythm), and this pattern is also maintained in plasma and extracellular fluid. However, the vast majority of studies on gene regulation by glucocorticoids typically assess gene responses regardless the ultradian rhythm. These experiments are usually performed using long-term stimulation with synthetic hormones (dexamethasone and triamcinolone), which form much more stable complexes with glucocorticoid receptor (GR) than natural hormones. This review summarizes the current scarce information, obtained in experiments mimicking the ultradian mode of natural hormone secretion in cultured cells and in animal models. The results of these experiments clearly demonstrate that ultradian stimulation by natural hormones induces rapid GR exchange with glucocorticoid response elements and leads to cyclic GR mediated transcriptional regulation (gene pulsing) at the level of nascent RNA. In contrast, synthetic glucocorticoids, having much higher receptor affinity, fail to disengage from nuclear receptors with sufficient speed to support the ultradian cycles, thereby uncoupling extracellular hormone fluctuations from appropriate receptor function at response elements. This alters RNA accumulation profiles dramatically. These findings suggest potentially important consequences of ultradian secretion. The transcriptional program induced by hormone pulses differs significantly from that generated by constant hormone treatment. Thus, treatment with synthetic glucocorticoids may not provide an accurate assessment of physiological hormone action.

Key words: glucocorticoid hormones; ultradian rhythm; target genes; transcription; dynamics.

Глюкокортикоидные гормоны являются регуляторами основных процессов жизнедеятельности организма позвоночных животных – координированного роста, дифференцировки, размножения, адаптации, поведения. Глюкокортикоиды участвуют в регуляции углеводного, белкового и липидного обмена, в поддержании водного и электролитного баланса, вовлечены в контроль пролиферации, дифференцировки и апоптоза многих типов клеток, обладают противовоспалительным и иммуносупрессорным действием. Эти гормоны играют важную роль в адаптации организма к различным «стрессам», таким как травма, тяжелые инфекционные заболевания, интоксикация и т. п. Они также вносят существенный вклад в регуляцию процессов размножения и поведения (Hierholzer, Buhler, 1996).

Действие глюкокортикоидов на клетки-мишени реализуется через их связывание с внутриклеточным белком-рецептором. Рецептор глюкокортикоидов (ГР, NR3C1) является лиганд-активируемым фактором транскрипции, принадлежащим суперсемейству ядерных рецепторов (Mangelsdorf et al., 1995). В отсутствие гормона ГР удерживается в цитоплазме клетки в составе мультибелкового комплекса, включающего несколько молекулярных шаперонов (Pratt et al., 2004). После связывания с гормоном ГР претерпевает изменения конформации, приводящие к диссоциации комплекса, высвобождению сигналов ядерной локализации (NLS) рецептора и переходу его в клеточное ядро (Nishi, Kawata, 2006). В ядре клетки ГР связывается со специфическими участками ДНК – элементами глюкокортикоидной регуляции (GREs) (Schoneveld et al., 2004; Merkulov, Merkulova, 2009), где взаимодействует с рядом других факторов транскрипции, кофакторными белками (включая гистонацетилазные и гистондеацетилазные комплексы), медиаторными и хроматинре моделирующими комплексами, что в итоге приводит к активации либо репрессии генов под действием глюкокортикоидных гормонов (Kino et al., 1999; Wallberg et al., 2000; Schoneveld et al., 2004; Merkulov, Merkulova, 2009).

Известно, что секреция глюкокортикоидных гормонов (кортизола у людей и кортикостерона у грызунов) надпочечниками и, соответственно, их уровень в плазме крови подчиняются суточному (циркадному) ритму. Этот ритм характеризуется низким уровнем гормонов в начале биологической ночи, что соответствует времени засыпания, его резким подъемом к середине биологической ночи, достижением максимума к моменту пробуждения и постепенным снижением гормонального уровня до момента начала нового суточного цикла (Morris et al., 2012). Более того, секреция глюкокортикоидных гормонов в течение суток имеет пульсирующий характер, с периодом примерно в 1 ч (ультрадианный, или внутрисуточный, ритм), что также находит отражение в их содержании в плазме и межклеточной жидкости (Lightman, 2006; Droste et al., 2008; Lightman et al., 2008; Qian et al., 2012). Однако влияние происходящих в организме пульсаций гормонального уровня как на поведение самого ГР, так и на экспрессию контролируемых им генов, до сих пор остается весьма слабо изученным. Большинство исследований по регуляции экспрессии генов глюкокортикоидами выполнено на достаточно далеких от физиологических условий моделях

одноразовой обработки синтетическими гормонами либо изолированных клеток, либо адреналэктомированных экспериментальных животных, у которых отсутствуют эндогенные глюкокортикоиды. В настоящем обзоре проведен анализ пока немногочисленных данных, полученных с использованием природных глюкокортикоидов в экспериментах, воспроизводящих физиологические пульсации уровня этих гормонов.

Влияние пульсаций уровня глюкокортикоидов на взаимодействие ГР с GREs и транскрипцию генов-мишеней на модели клеточной линии 3617

На рис. 1 приведен типичный пример внутрисуточных изменений содержания глюкокортикоидных гормонов в плазме крови, определявшихся у самцов и самок крыс линии Спрэг-Дуули.

Хорошо видны пульсации уровня кортикостерона, когда его содержание в течение, примерно, часа возрастает от очень низких до относительно высоких, характерных для данного периода суток значений, и возвращается к исходному уровню. При этом известно, что характер пульсаций гормонального уровня в норме может модулироваться в зависимости от генотипа организма, его пола и возраста (Conway-Campbell et al., 2012). Особенно сильные вариации как в частоте гормональных пульсаций, так и в их амплитуде и объеме, могут происходить при различных патологических состояниях, таких как депрессия (Young et al., 2001), болезни Альцгеймера и Паркинсона (Hartmann et al., 1997), хронический стресс (Young et al., 2004; Henley et al., 2009) и др.

Для изучения влияния «типичных» часовых пульсаций уровня глюкокортикоидов на взаимодействие ГР с GREs была использована линия клеток 3617. В геноме клеток этой линии встроены тандем повторов LTR MMTV с множественными GREs (всего 800–1200 GREs в одном месте). Также данная линия экспрессирует ГР, слитый с флюоресцирующим белком GFP (Walker et al., 1999). Создание такой линии позволило изучить динамику связывания ГР с GREs в живой клетке. Клетки инкубировали в условиях периодической смены культуральной среды, содержащей и не содержащей кортикостерон, таким образом, чтобы полный цикл добавления гормона/отмывки составлял один час (рис. 2).

Было показано, что в отсутствие гормона флюоресценция GFP наблюдается только в цитоплазме (рис. 2). После добавления в культуральную среду кортикостерона ГР-GFP переходил в ядро клетки и формировал яркое флюоресцирующее пятно в месте компактной локализации сотен GREs. Это пятно исчезало после отмывки клеток от гормона. При повторном добавлении и отмывке гормона наблюдался следующий цикл связывания рецептора со специфическими сайтами на ДНК и удаления его с этих сайтов (рис. 2, а, б). Важно отметить, что, когда в данном эксперименте использовали синтетический глюкокортикоид дексаметазон, несмотря на смену культуральной среды, содержащей и не содержащей гормон, флюоресцирующее пятно на участке локализации GREs оставалось неизменным, т. е. никаких циклов в связывании/диссоциации ГР не наблюдалось (Stavreva et al., 2009).

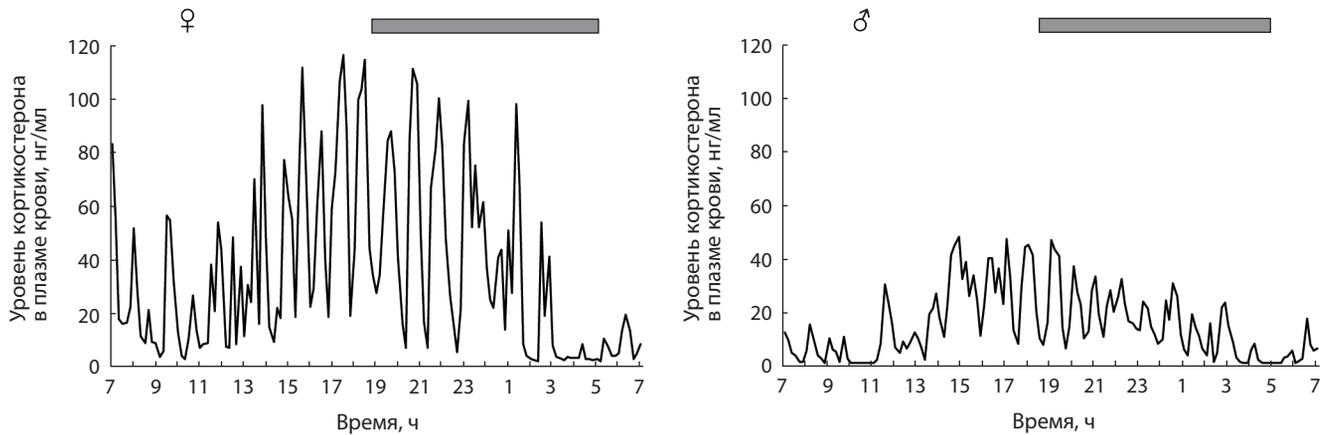


Рис. 1. Внутрисуточные изменения уровня кортикостерона в плазме крови самцов и самок крыс линии Спрэг-Доули.

Уровень кортикостерона плазмы (нг/мл) измерялся каждые 10 мин в течение 24 ч. Темное время суток (с 19.00 до 05.00 часов) обозначено заштрихованным прямоугольником (из: (Seale et al., 2004)).

Наблюдаемое различие, вероятно всего, связано с тем, что дексаметазон образует долгоживущие комплексы с ГР (время полужизни около 8–10 ч), в отличие от природных глюкокортикоидов кортикостерона и кортизола, для которых время полужизни комплексов с ГР составляет около 15 мин (Stavreva et al., 2009).

На клеточной линии 3617 было также проведено изучение влияния часовых гормональных пульсаций на характер транскрипции нескольких известных индуцируемых глюкокортикоидами генов: *Suox*, *Tsc22d3*, *Tgm2*, *MT2* и *Per1*. Измерение количества первичных транскриптов этих генов (с использованием праймеров на экзон-интронные границы) показало, что оно изменяется в точном соответствии с пульсациями кортикостерона и динамикой взаимодействия ГР-GFP с GREs. Для каждого исследованного гена количество первичного транскрипта быстро увеличивалось в результате подачи гормона и снижалось до исходного уровня после его удаления. В ходе данного эксперимента было проведено 8 часовых циклов подачи/удаления кортикостерона и, соответственно, наблюдалось 8 часовых циклов изменения уровня транскрипции для всех исследованных генов. Авторы назвали открытое ими явление пульсацией генов (**gene pulsing**) (Stavreva et al., 2009).

Важно отметить, что при постоянном присутствии кортикостерона в культуральной среде пульсаций в синтезе первичных транскриптов с этих генов не наблюдалось, но в целом уровень их экспрессии был выше, чем в условиях периодического добавления/отмывки гормона. Более высокий уровень экспрессии генов при отсутствии их пульсации регистрировался и в том случае, если в экспериментах по периодическому добавлению/отмывке гормона вместо кортикостерона использовали синтетический глюкокортикоид дексаметазон, образующий долгоживущие комплексы с ГР (Stavreva et al., 2009).

Влияние гормональных пульсаций на уровень зрелой мРНК

Поскольку синтез первичного транскрипта является первой стадией процесса генной экспрессии, эффектив-

ность которого в значительной мере зависит также от последующих стадий, возникает закономерный вопрос о влиянии внутрисуточных пульсаций уровня глюкокортикоидных гормонов на количество зрелой мРНК индуцируемых этими гормонами генов. Хотя исследование зависимости уровня мРНК и динамики его изменений от способа гормональной обработки было проведено на небольшом числе генов (*MT2*, *Per1* и *Fkbp5*), его результаты представляют значительный интерес. В частности, было показано, что для гена *Per1* часовые пульсации в обработке клеток кортикостероном приводят не только к волнообразной динамике синтеза первичного транскрипта, но и подобному волнообразному изменению уровня зрелой мРНК. В противоположность этому, пульсации первичного транскрипта гена *MT2* оказались полностью сглаженными на уровне постепенного накопления зрелой мРНК этого гена. Такую же динамику накопления демонстрировала мРНК гена *Fkbp5* (Stavreva et al., 2009). Таким образом, явление пульсации генов на уровне зрелой мРНК в настоящий момент продемонстрировано только для гена *Per1*. Это, очевидно, связано с очень коротким временем полужизни его мРНК (менее 30 мин, Hardin et al., 1992). Можно ожидать, что для других индуцируемых глюкокортикоидами генов с короткоживущими мРНК будет также выявлено волнообразное изменение содержания зрелых транскриптов, повторяющее природные гормональные пульсации.

Еще одним очень важным результатом данного исследования является то, что для всех трех исследованных генов количество зрелой мРНК было существенно выше в условиях постоянного присутствия кортикостерона в культуральной среде по сравнению с циклической обработкой клеток этим гормоном. Одноразовая обработка клеток дексаметазоном также приводила к повышению содержания зрелой мРНК этих генов по сравнению с циклической обработкой клеток кортикостероном. Повышение количества мРНК сопровождалось увеличением содержания в клетках соответствующих белковых продуктов (Stavreva et al., 2009). **Анализируя полученные данные**, авторы выдвинули предположение о том, что пульсация

генов имеет большое значение для формирования правильного ответа на глюкокортикоидные гормоны и что постоянная гормональная стимуляция может приводить к искажению характера как транскриптома, так и протеома клетки-мишени, и, следовательно, вызывать нежелательные физиологические последствия.

Влияние гормональных пульсаций на характер транскрипции индуцируемых глюкокортикоидами генов в организме экспериментальных животных

Для изучения эффектов гормональных пульсаций в условиях *in vivo* были использованы адrenaлэктомированные крысы линии Спрэг-Дуули, получавшие кортикостерон в заданные интервалы времени через вживленную в вену канюлю. На данной модели были исследованы активация ГР и синтез первичного транскрипта гена *Per1* в печени (Stavreva et al., 2009) и гиппокампе (Conway-Campbell et al., 2010) в условиях, воспроизводящих природный характер внутрисуточных пульсаций гормона у крыс этой линии (см. рис. 1, Seale et al., 2004). Из данных, приведенных на рис. 3, видно, что через 1 мин после инъекции в плазме крови детектируется максимальный уровень кортикостерона, который затем снижается до нулевых значений в течение часа. За каждым пиком повышения уровня кортикостерона следует пик активации ГР как в печени, так и гиппокампе, детектируемый по способности ГР связываться с содержащим GRE олигонуклеотидом в условиях *in vitro*. Этот пик сопровождается увеличением количества первичного транскрипта *Per1*, которое затем снижается практически до нулевого уровня. При повторном введении гормона цикл повторяется. Кроме того, методом иммунопреципитации хроматина (ChIP) была исследована динамика связывания ГР с GRE в промоторном районе гена *Per-1*, которая совпала с динамикой активации ГР (Stavreva et al., 2009; Conway-Campbell et al., 2010).

Таким образом, было показано, что на уровне образования первичного транскрипта явление пульсации генов наблюдается и в различных органах живого организма.

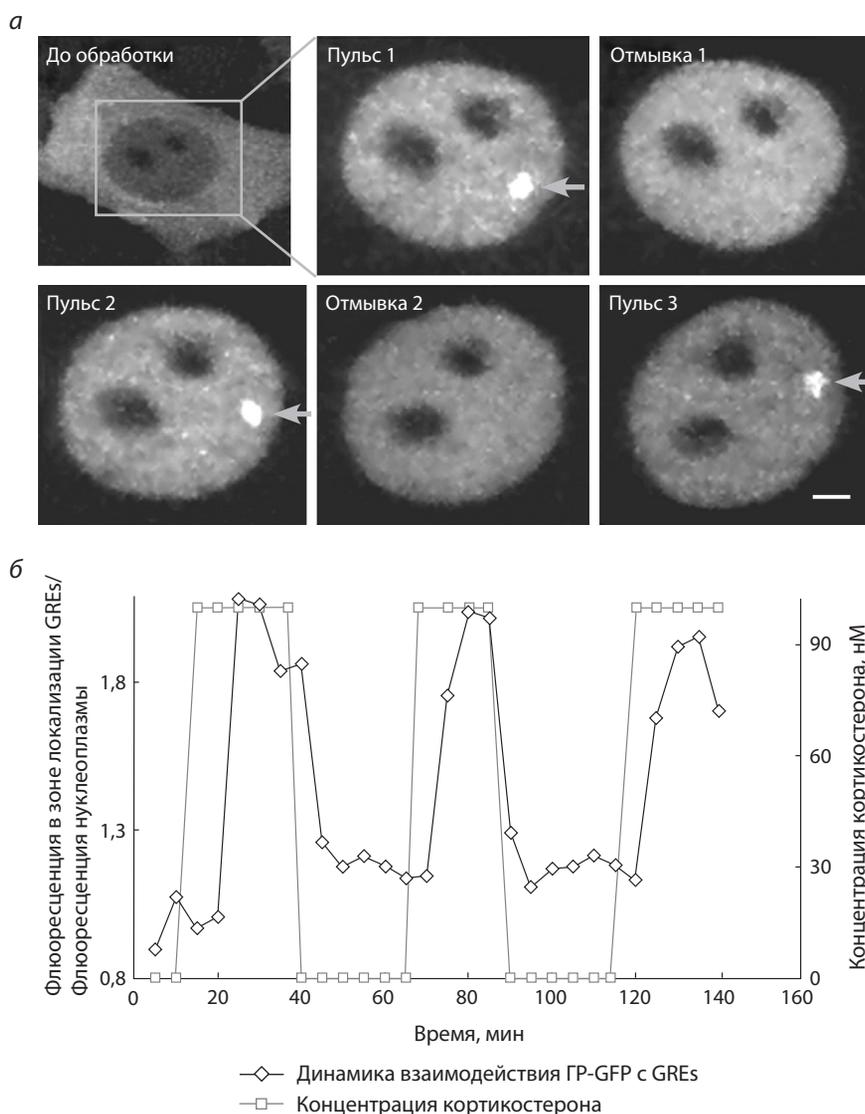


Рис. 2. Пульсирующая обработка клеток линии 3617 кортикостероном приводит к циклическому связыванию ГР с тандемом повторов LTR MMTV, содержащим множественные GREs.

а – в неиндуцированных клетках (до обработки гормоном) ГР-GFP локализован преимущественно в цитоплазме. Добавление в культуральную среду кортикостерона (Пульс 1) приводит к транслокации ГР-GFP в ядро, где этот белок визуализируется в месте компактной локализации множества GREs (светящееся пятно, обозначенное стрелкой). Отмывка лиганда (Отмывка 1) приводит к быстрой диссоциации ГР-GFP с GREs. Каждое последующее добавление/отмывка кортикостерона, имитирующее часовые пульсации уровня глюкокортикоидов, приводит к повторению цикла связывания ГР-GFP с GREs; *б* – данные по интенсивности флуоресценции демонстрируют, что диссоциация комплекса ГР-GFP с участка расположения GREs происходит меньше чем за 10 мин после отмены (прекращения) обработки клеток гормоном (из: (Stavreva et al., 2009)).

Обсуждение

Синтетические глюкокортикоиды, такие как дексаметазон и триамценолон, характеризующиеся высокой стабильностью в водных растворах и биологических жидкостях, а также высокой прочностью их комплексов с ГР, в течение многих лет использовались практически во всех работах по изучению влияния глюкокортикоидных гормонов на экспрессию различных генов и выяснению механизмов глюкокортикоидной регуляции. С помощью этих гормонов были получены высокоочищенные препараты ГР и впервые для эукариотических регуляторных белков показана способность одного из них (ГР) опознавать определенные участки ДНК (Wrangle et al., 1979; Payvar et al., 1981; Gustafsson, 2005), что затем привело к выявлению сотен GREs в различных генах (Merkulov, Merkulova, 2009). В более поздних работах, в экспериментах по изучению

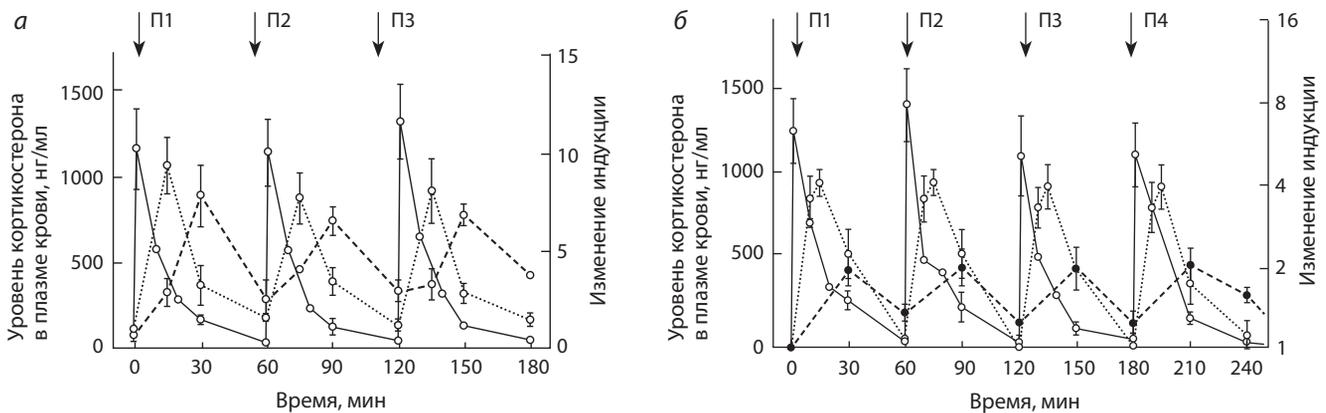


Рис. 3. Активация GR и экспрессия гена *Per1* в печени (а) и гиппокампе (б) адrenaлэктомированных крыс в условиях, воспроизводящих природный характер внутрисуточных пульсаций кортикостерона.

а – каждый акт введения кортикостерона (П1, П2, П3, где П – пульс) сопровождается повышением уровня гормона в плазме крови через 1 мин и последующим его снижением через 10 мин после инъекции (сплошная линия). Каждый импульс гормона сопровождается активацией GR в печени (пунктирная линия) и последующим повышением уровня транскрипции гена *Per1* (штриховая линия) (по: Stavreva et al., 2009); б – аналогичные результаты получены на гиппокампе: уровень кортикостерона в плазме крови – сплошная линия; динамика активации GR – пунктирная линия; изменение экспрессии *Per1* – штриховая линия (из: (Conway-Campbell et al., 2010)).

транскриптомов с помощью микрочипов или массового параллельного секвенирования (RNA-seq) с применением синтетических гормонов были выявлены многие сотни генов-мишеней глюкокортикоидов в различных органах и тканях (Planey et al., 2003; Wang et al., 2003; Agbemafe et al., 2005; Gupta et al., 2005; Phuc Le et al., 2005; Reddy et al., 2009; Himes et al., 2014).

С использованием синтетического глюкокортикоида дексаметазона было также проведено изучение динамики гормонального ответа сотен генов на двух клеточных линиях мыши, 3134 (клетки молочной железы) и AtT20 (кортикотрофы гипофиза) (John et al., 2009). Исследование было выполнено с помощью микрочипового анализа кДНК, синтезированной с использованием препаратов мРНК, полученных в разные интервалы времени после обработки клеток гормоном. Результаты данного исследования показали, что процесс как индукции, так и репрессии под действием глюкокортикоидов может по-разному разворачиваться во времени для разных групп генов. Среди генов, индуцируемых дексаметазоном, были выделены три основные группы: 1) гены, увеличение уровня мРНК которых происходит в первые 2–4 ч, и затем он выходит на плато; 2) гены, увеличение уровня мРНК которых в первые 2–4 ч сменяется его падением, и 3) гены, демонстрирующие постоянно нарастающее содержание мРНК под действием дексаметазона (рис. 4).

Также три группы выделялись при анализе генов, репрессируемых этим гормоном: 1) конститутивно репрессируемые гены, уровень мРНК которых постоянно снижается; 2) гены, постепенно восстанавливающие уровень мРНК после его быстрого падения в течение первых четырех часов гормональной обработки, и 3) гены, не восстанавливающие этот уровень после его быстрого падения (рис. 4). При выборочном исследовании динамики глюкокортикоидной регуляции генов, представляющих все перечисленные группы, на уровне первичных транскриптов были получены точно такие же

результаты, что указывает на заданность этого процесса особенностями строения регуляторных районов генов указанных групп.

Однако, несмотря на получение глубоких фундаментальных знаний о механизмах глюкокортикоидной регуляции, использование в исследованиях синтетических глюкокортикоидов не отвечает на вопрос о динамике генного ответа в организме, вызываемого природными глюкокортикоидами, секреция которых происходит в соответствии с суточными (циркадными) и внутрисуточными (ультрадианными) ритмами и модулируется в ответ на разнообразные стрессы (Conway-Campbell et al., 2012). Немногочисленные работы, выполненные с использованием природных глюкокортикоидов в условиях, воспроизводящих физиологические пульсации уровня этих гормонов, указывают на существенные различия в наблюдаемой в этих случаях динамике гормонального ответа по сравнению с той, которая регистрируется при применении синтетических гормонов, даже если они вводятся по схеме, соответствующей ультрадианному ритму. Эти различия заключаются как в отсутствии пульсаций генной экспрессии, которая наблюдается при использовании только природных гормонов, так и в общем повышении уровня гормональной индукции при использовании синтетических глюкокортикоидов.

Важно отметить, что результаты исследований динамики ответа различных генов на природные глюкокортикоиды вносят новый вклад в понимание механизмов ген-специфичной глюкокортикоидной регуляции. Хорошо известно, что, хотя GR экспрессируется практически во всех типах клеток (Thompson, 1987; Chrousos et al., 2004), наборы генов, контролируемых этими гормонами в различных тканях, существенно различаются (So et al., 2007; Gross, Cidlowski, 2008). Различаются также амплитуда, направленность, временная и дозовая зависимость ответа на гормон как для одного и того же гена в разных типах клеток, так и для разных генов в одной и той же

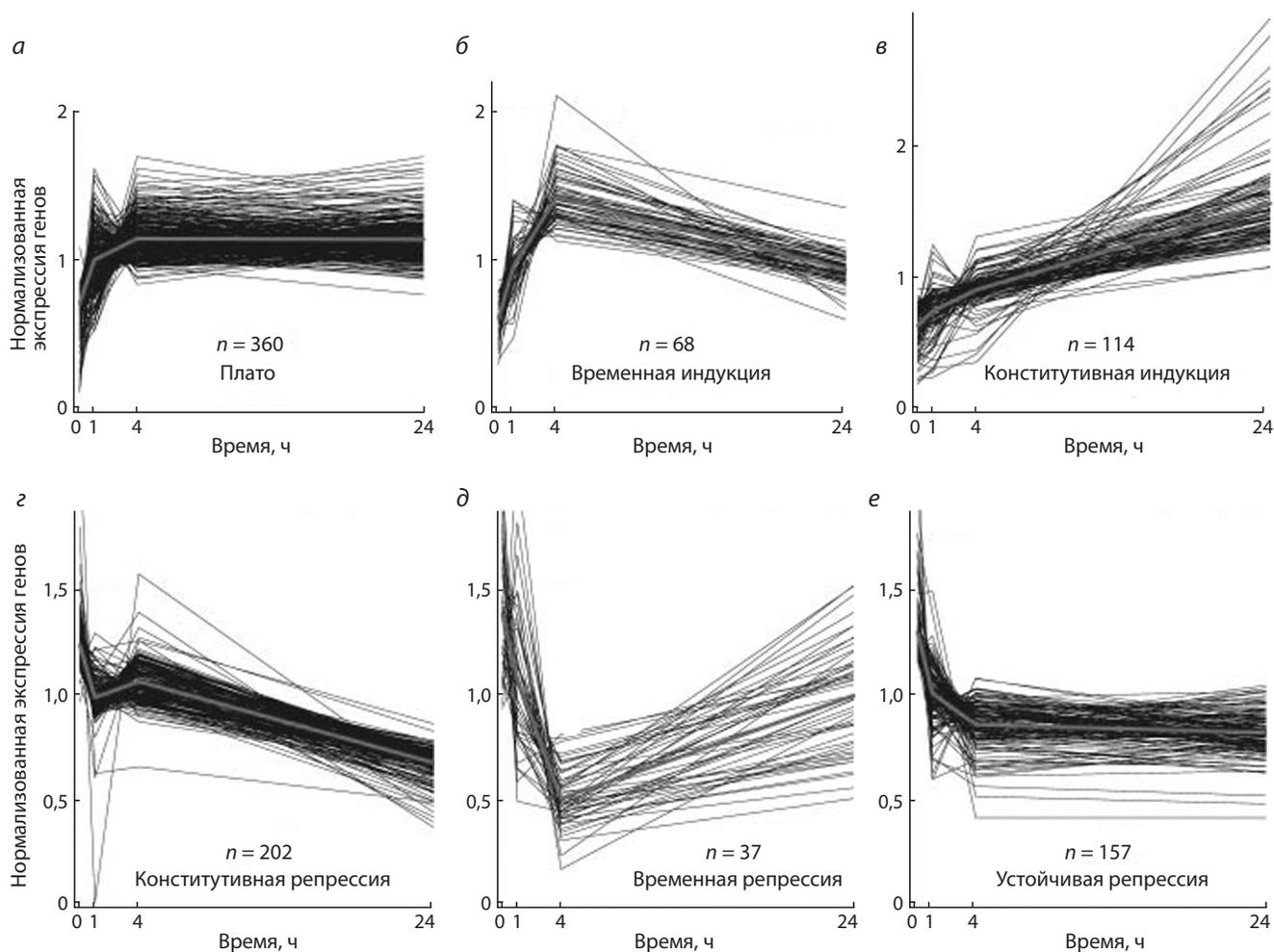


Рис. 4. Типичные профили индукции и репрессии генов дексаметазоном в клетках линии 3134.

Клетки обрабатывали 100 нМ дексаметазона в течение 0, 2, 4 и 24 ч. *а* – гены, увеличение уровня мРНК которых происходит быстро, и затем он выходит на плато; *б* – гены, увеличение уровня мРНК которых сменяется его падением; *в* – гены, демонстрирующие постоянное нарастание экспрессии под действием гормона; *г* – конститутивно репрессируемые гены (уровень их мРНК постоянно снижается); *д* – гены, уровень мРНК которых постепенно восстанавливается после быстрого падения; *е* – гены, уровень экспрессии которых быстро и устойчиво падает в ответ на обработку гормоном. Аналогичные результаты получены на клетках линии AtT20 (из: (John et al., 2009)). *n* – число генов.

клетке (John et al., 2009). По современным представлениям, основной вклад в осуществление специфичности глюкокортикоидной регуляции различных генов-мишеней ГР вносит организация их регуляторных районов, которая включает как особенности структуры GREs (Merkulov, Merkulova, 2009), так и наличие других регуляторных элементов, обеспечивающих возможность взаимодействия ГР с другими транскрипционными факторами (Truss, Beato, 1993; Schoneveld et al., 2004). Еще одним механизмом обеспечения специфичности является способность ГР образовывать ряд изоформ за счет альтернативного сплайсинга мРНК и использования альтернативных стартов трансляции при синтезе белка (Oakley, Cidlowski, 2011). Выявление различий в ответе генов на физиологические пульсации природных глюкокортикоидов (Stavreva et al., 2009) открывает еще один уровень ген-специфической регуляции этими гормонами.

Результаты сравнительного исследования динамики ответа на природные и синтетические долгоживущие глю-

кокортикоиды представляют также значительный интерес для фармакологии и медицины, поскольку представители последней группы (преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамценолон и др.) широко применяются в терапии воспалительных и аутоиммунных заболеваний, таких как астма, аллергия, ревматоидный артрит, язвенный колит и рассеянный склероз (Miner et al., 2005; Rhen, Cidlowski, 2005; Stahn et al., 2007). Эти гормоны также обычно прописывают пациентам для предотвращения отторжения трансплантатов и лечения злокачественных заболеваний лимфоидной системы (лейкемий, лимфом и миелом) (Oakley, Cidlowski, 2013). К сожалению, изучение влияния пульсаций природных глюкокортикоидов пока не проводилось на генах, экспрессия которых подавляется глюкокортикоидными гормонами. Это является существенным пробелом, поскольку репрессия генов под действием глюкокортикоидов считается основным механизмом их противовоспалительного и иммуносупрессорного действия (Belvisi et al., 2001; Catley,

2007). В связи с необходимостью обстоятельного изучения механизмов трансрепрессии для разработки новых подходов к лечению воспалительных и аутоиммунных заболеваний можно надеяться, что этот пробел будет закрыт в ближайшем будущем.

Известно, что длительный прием препаратов глюкокортикоидных гормонов приводит к целому ряду нежелательных побочных эффектов, включающих остеопороз, диабет, атрофию кожи, абдоминальное ожирение, глаукому, задержку роста у детей, гипертензию и др. (Miner et al., 2005; Rhen, Cidlowski, 2005), что является основной проблемой их терапевтического применения. До сих пор основные усилия по решению этой проблемы были сосредоточены на поиске новых селективных лигандов ГР (Stahn et al., 2007; Löwenberg et al., 2008; Skuza et al., 2011; Bareille et al., 2013; Baiula, Spampinato, 2014; Saksida et al., 2014), действие которых может быть ограничено различными функциональными группами генов-мишеней ГР, а также на разработке средств воздействия на кофакторы, вовлеченные в глюкокортикоидную регуляцию определенных групп генов (Simons, 2010). В последнее время также активно разрабатываются подходы к оптимизации схем введения природных глюкокортикоидов, воспроизводящих не только суточные (циркадные) ритмы секреции этих гормонов (Barbetta et al., 2005; Verma et al., 2010; Johannsson et al., 2012), но и внутрисуточные (ультрадианные) ритмы (Russell, Lightman, 2014). Предполагается, что развитие таких подходов поможет существенно уменьшить негативные последствия глюкокортикоидной терапии (Henley, Lightman, 2014; Russell, Lightman, 2014).

Благодарности

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН № VI.58.1.2.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Agbemafla B.M., Oesterreicher T.J., Shaw C.A., Henning S.J. Immediate early genes of glucocorticoid action on the developing intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2005;288:G897-G906. DOI: 10.1152/ajpgi.00454.2004
- Baiula M., Spampinato S. Mapracorat, a novel non-steroidal selective glucocorticoid receptor agonist for the treatment of allergic conjunctivitis. *Inflamm. Allergy Drug Targets.* 2014;13(5):289-298. DOI: 10.2174/1871528113666141106101356
- Barbetta L., Dall'Asta C., Re T., Libè R., Costa E., Ambrosi B. Comparison of different regimes of glucocorticoid replacement therapy in patients with hypoadrenalism. *J. Endocrinol. Invest.* 2005;28(7):632-637.
- Bareille P., Harges K., Donald A.C. Efficacy and safety of once-daily GW870086 a novel selective glucocorticoid in mild-moderate asthmatics: a randomised, two-way crossover, controlled clinical trial. *J. Asthma.* 2013;50(10):1077-1082. DOI: 10.3109/02770903.2013.837480
- Belvisi M.G., Wicks S.L., Battram C.H., Bottoms S.E., Redford J.E., Woodman P., Brown T.J., Webber S.E., Foster M.L. Therapeutic benefit of a dissociated glucocorticoid and the relevance of *in vitro* separation of transrepression from transactivation activity. *J. Immunol.* 2001;166(3):1975-1982. DOI: 10.4049/jimmunol.166.3.1975
- Catley M. Dissociated steroids. *Sci. World J.* 2007;7:421-430. DOI: 10.1100/tsw.2007.97
- Chrousos G.P., Charmandari E., Kino T. Glucocorticoid action networks – an introduction to systems biology. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:563-564. DOI: 10.1210/jc.2003-032026
- Conway-Campbell B.L., Sarabdjitsingh R.A., McKenna M.A., Pooley J.R., Kershaw Y.M., Meijer O.C., De Kloet E.R., Lightman S.L. Glucocorticoid ultradian rhythmicity directs cyclical gene pulsing of the clock gene period 1 in rat hippocampus. *J. Neuroendocrinol.* 2010;22(10):1093-100. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2010.02051.x
- Conway-Campbell B.L., Pooley J.R., Hager G.L., Lightman S.L. Molecular dynamics of ultradian glucocorticoid receptor action. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012;348(2):383-393. DOI: 10.1016/j.mce.2011.08.014
- Droste S.K., de Groote L., Atkinson H.C., Lightman S.L., Reul J.M., Linthorst A.C. Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress. *Endocrinology.* 2008;149(7):3244-53. DOI: 10.1210/en.2008-0103
- Gross K.L., Cidlowski J.A. Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair. *Trends Endocrinol. Metab.* 2008;19:331-339. DOI: 10.1016/j.tem.2008.07.009
- Gupta V., Galante A., Soteropoulos P., Guo S., Wagner B.J. Global gene profiling reveals novel glucocorticoid induced changes in gene expression of human lens epithelial cells. *Mol. Vis.* 2005;11:1018-1040.
- Gustafsson J.A. Steroids and scientist. *Mol. Endocrinol.* 2005;19:61412-61417. DOI: 10.1210/me.2004-0479
- Hardin P.E., Hall J.C., Rosbash M. Circadian oscillations in period gene mRNA levels are transcriptionally regulated. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1992;89(24):11711-11715.
- Hartmann A., Veldhuis J.D., Deuschle M., Standhardt H., Heuser I. Twenty-four hour cortisol release profiles in patients with Alzheimer's and Parkinson's disease compared to normal controls: ultradian secretory pulsatility and diurnal variation. *Neurobiol. Aging.* 1997;18(3):285-289. DOI: 10.1016/S0197-4580(97)80309-0
- Henley D.E., Russell G.M., Douthwaite J.A., Wood S.A., Buchanan F., Gibson R., Woltersdorf W.W., Catterall J.R., Lightman S.L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in obstructive sleep apnea: the effect of continuous positive airway pressure therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009;94(11):4234-4342. DOI: 10.1210/jc.2009-1174
- Henley D.E., Lightman S.L. Cardio-metabolic consequences of glucocorticoid replacement: relevance of ultradian signaling. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2014;80(5):621-628. DOI: 10.1111/cen.12422
- Hierholzer K., Buhler H. Metabolism of cortical steroid hormones and their general mode of action. *Comprehensive human physiology.* Ed. R. Greger, U. Windhorst. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1996.
- Himes B.E., Jiang X., Wagner P., Hu R., Wang Q., Klanderma B., Whitaker R.M., Duan Q., Lasky-Su J., Nikolos C., Jester W., Johnson M., Panettieri R.A. Jr., Tantisira K.G., Weiss S.T., Lu Q. RNA-Seq transcriptome profiling identifies CRISPLD2 as a glucocorticoid responsive gene that modulates cytokine function in airway smooth muscle cells. *PLoS One.* 2014;9(6):e99625. DOI: 10.1371/journal.pone.0099625
- Johannsson G., Nilsson A.G., Bergthorsdottir R., Burman P., Dahlqvist P., Ekman B., Engström B.E., Olsson T., Ragnarsson O., Ryberg M., Wahlberg J., Biller B.M., Monson J.P., Stewart P.M., Lennernäs H., Skrtic S. Improved cortisol exposure-time profile and outcome in patients with adrenal insufficiency: a prospective randomized trial of a novel hydrocortisone dual-release formulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012;97(2):473-481. DOI: 10.1210/jc.2011-1926
- John S., Johnson T.A., Sung M.H., Biddie S.C., Trump S., Koch-Paiz C.A., Davis S.R., Walker R., Meltzer P.S., Hager G.L. Kinetic complexity of the global response to glucocorticoid receptor action. *Endocrinology.* 2009;150(4):1766-1774. DOI: 10.1210/en.2008-0863
- Kino T., Nordeen S.K., Chrousos G.P. Conditional modulation of glucocorticoid receptor activities by CREB-binding protein (CBP) and p300. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1999;70(1/3):15-25. DOI: 10.1016/S0960-0760(99)00100-4

- Lightman S.L. Patterns of exposure to glucocorticoid receptor ligand. *Biochem. Soc. Trans.* 2006;34(6):1117-1118. DOI: 10.1042/BST0341117
- Lightman S.L., Wiles C.C., Atkinson H.C., Henley D.E., Russell G.M., Leendertz J.A., McKenna M.A., Spiga F., Wood S.A., Conway-Campbell B.L. The significance of glucocorticoid pulsatility. *Eur. J. Pharmacol.* 2008;583(2/3):255-262. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.11.073
- Löwenberg M., Stahn C., Hommes D.W., Buttgereit F. Novel insights into mechanisms of glucocorticoid action and the development of new glucocorticoid receptor ligands. *Steroids.* 2008;73(9/10):1025-1029. DOI: 10.1016/j.steroids.2007.12.002
- Mangelsdorf D.J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schutz G., Umesono K., Blumberg B., Kastner P., Mark M., Chambon P., Evans R.M. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell.* 1995;83(6):835-839. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90199-X
- Merkulov V.M., Merkulova T.I. Structural variants of glucocorticoid receptor binding sites and different versions of positive glucocorticoid responsive elements: Analysis of GR-TRRD database. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2009;115:1-8. DOI: 10.1016/j.jsmb.2009.02.003
- Miner J.N., Hong M.H., Negro-Vilar A. New and improved glucocorticoid receptor ligands. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2005;14(12):1527-1545. DOI: 10.1517/13543784.14.12.1527
- Morris C.J., Aeschbach D., Scheer F.A. Circadian system, sleep and endocrinology. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2012;349:91-104. DOI: 10.1016/j.mce.2011.09.003
- Nishi M., Kawata M. **Brain corticosteroid receptor dynamics and trafficking: Implications from live cell imaging.** *Neuroscientist.* 2006;12(2):119-133.
- Oakley R.H., Cidlowski J.A. Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *J. Biol. Chem.* 2011;286:3177-3184. DOI: 10.1074/jbc.R110.179325
- Oakley R.H., Cidlowski J.A. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013;132(5):1033-1044. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.09.007
- Payvar F., Wrangle O., Carlstedt-Duke J., Okret S., Gustafsson J.A., Yamamoto K.R. Purified glucocorticoid receptors bind selectively *in vitro* to a cloned DNA fragment whose transcription is regulated by glucocorticoids *in vivo*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1981;78(11):6628-6632.
- Phuc Le P., Friedman J.R., Schug J., Brestelli J.E., Parker J.B., Bochkis I.M., Kaestner K.H. Glucocorticoid receptor-dependent gene regulatory networks. *PLoS Genet.* 2005;1(2):e16. DOI: 10.1371/journal.pgen.0010016
- Planey S.L., Abrams M.T., Robertson N.M., Litwack G. Role of apical caspases and glucocorticoid-regulated genes in glucocorticoid-induced apoptosis of pre-B leukemic cells. *Cancer Res.* 2003;63:172-178.
- Pratt W.B., Galnigiana M.D., Morishima Y., Murphy P.J. Role of molecular chaperones in steroid receptor action. *Essays Biochem.* 2004;40:41-58.
- Qian X., Droste S.K., Lightman S.L., Reul J.M., Linthorst A.C. Circadian and ultradian rhythms of free glucocorticoid hormone are highly synchronized between the blood, the subcutaneous tissue, and the brain. *Endocrinology.* 2012;153(9):4346-4353. DOI: 10.1210/en.2012-1484
- Reddy T.E., Pauli F., Sprouse R.O., Neff N.F., Newberry K.M., Garabedian M.J., Myers R.M. Genomic determination of the glucocorticoid response reveals unexpected mechanisms of gene regulation. *Genome Res.* 2009;19(12):2163-2171. DOI: 10.1101/gr.097022.109
- Rhen T., Cidlowski J.A. Antiinflammatory action of glucocorticoids – new mechanisms for old drugs. *N. Engl. J. Med.* 2005;353(16):1711-1723. DOI: 10.1056/NEJMra050541
- Russell G.M., Lightman S.L. Can side effects of steroid treatments be minimized by the temporal aspects of delivery method? *Expert Opin. Drug Saf.* 2014;13(11):1501-1513. DOI: 10.1517/14740338.2014.965141
- Saksida T., Vujicic M., Nikolic I., Stojanovic I., Haegeman G., Stosic-Grujicic S. Compound A, a selective glucocorticoid receptor agonist, inhibits immunoinflammatory diabetes, induced by multiple low doses of streptozotocin in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171(24):5898-5909. DOI: 10.1111/bph.12892
- Schoneveld O.J., Gaemers I.C., Lamers W.H. Mechanisms of glucocorticoid signaling. *Biochem. Biophys. Acta.* 2004;1680(2):114-128.
- Seale J.V., Wood S.A., Atkinson H.C., Bate E., Lightman S.L., Ingram C.D., Jessop D.S., Harbuz M.S. Gonadectomy reverses the sexually dimorphic patterns of circadian and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in male and female rats. *J. Neuroendocrinol.* 2004;16(6):516-524. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2004.01195.x
- Simons S.S.Jr. Glucocorticoid receptor cofactors as therapeutic targets. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010;10:613-619. DOI: 10.1016/j.coph.2010.08.001
- Skuzka G., Szymańska M., Budziszewska B., Abate C., Berardi F. Effects of PB190 and PB212, new σ receptor ligands, on glucocorticoid receptor-mediated gene transcription in LMCAT cells. *Pharmacol. Rep.* 2011;63(6):1564-1568.
- Stahn C., Löwenberg M., Hommes D.W., Buttgereit F. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists. *Mol. Cell Endocrinol.* 2007;275(1/2):71-78. DOI: 10.1016/j.mce.2007.05.019
- So A.Y., Chaivorapol C., Bolton E.C., Li H., Yamamoto K.R. Determinants of cell- and gene-specific transcriptional regulation by the glucocorticoid receptor. *PLoS Genet.* 2007;3:e94. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030094
- Stavreva D.A., Wiench M., John S., Conway-Campbell B.L., McKenna M.A., Pooley J.R., Johnson T.A., Voss T.C., Lightman S.L., Hager G.L. Ultradian hormone stimulation induces glucocorticoid receptor-mediated pulses of gene transcription. *Nat. Cell Biol.* 2009;11(9):1093-1102. DOI: 10.1038/ncb1922
- Thompson E.B. The structure of the human glucocorticoid receptor and its gene. *J. Steroid Biochem.* 1987;27:105-8. DOI: 10.1016/0022-4731(87)90300-1
- Truss M., Beato M. Steroid hormone receptors: interaction with deoxyribo-nucleic acids and transcription factors. *Endocrine Rev.* 1993;14:459-478. DOI: 10.1210/er.14.4.459
- Verma S., Vanryzin C., Sinaï N., Kim M.S., Nieman L.K., Ravindran S., Calis K.A., Arlt W., Ross R.J., Merke D.P. A pharmacokinetic and pharmacodynamic study of delayed- and extended-release hydrocortisone (Chronocort) vs. conventional hydrocortisone (Cortef) in the treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Clin. Endocrinol.* 2010;72(4):441-7. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03636.x
- Wang Z., Malone M.H., He H., McColl K.S., Distelhorst C.W. Microarray analysis uncovers the induction of the proapoptotic BH3-only protein Bim in multiple models of glucocorticoid-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2003;278(26):23861-72386. DOI: 10.1074/jbc.M301843200
- Walker D., Htun H., Hager G.L. Using inducible vectors to study intracellular trafficking of GFP-tagged steroid/nuclear receptors in living cells. *Methods.* 1999;19(3):386-393. DOI: 10.1006/meth.1999.0874
- Wallberg A.E., Flinn E.M., Gustafsson J.A., Wright A.P. Recruitment of chromatin remodelling factors during gene activation via the glucocorticoid receptor N-terminal domain. *Biochem. Soc. Trans.* 2000;28(4):410-414.
- Wrangle O., Carlstedt-Duke J., Gustafsson J.-A. Purification of the glucocorticoid receptor from rat liver cytosol. *J. Biol. Chem.* 1979;254(18):9284-9290.
- Young E.A., Carlson N.E., Brown M.B. Twenty-four-hour ACTH and cortisol pulsatility in depressed women. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(2):267-276. DOI: 10.1016/S0893-133X(00)00236-0
- Young E.A., Abelson J., Lightman S.L. Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health. *Front. Neuroendocrinol.* 2004;25(2):69-76. DOI: 10.1016/j.yfrne.2004.07.001

Динамика биоразнообразия черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга

Н.А. Зиновьева¹, Е.А. Гладырь¹, В.А. Багиров¹, Г. Брем^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. академика Л.К. Эрнста», Московская область, Подольский район, пос. Дубровицы, Россия

² Институт животноводства и генетики ветеринарно-медицинского университета, Вена, Австрия

Межпородное скрещивание (кроссбридинг) способствует интродукции новых аллелей, повышению уровня генетического разнообразия крупного рогатого скота, достижению желательных фенотипических характеристик исходных пород. Однако следствием кроссбридинга может стать снижение степени генетической дифференциации пород, обусловленное потерей части их уникального аллелофонда. Цель настоящей работы – изучение влияния кроссбридинга на изменчивость аллелофонда отечественного черно-пестрого скота с использованием 10 локусов микросателлитов (BM1818, BM2113, ETH10, ETH225, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ILST005, ETH185, ILST006). Исследования проводили на чистопородных быках-производителях черно-пестрой породы (BW_PB, $n = 14$) и кроссах с голштинской породой с кровностью по черно-пестрой породе 25,0–62,5 % (BW_KR1, $n = 16$) и менее 12,5 % (BW-KR2, $n = 67$). В качестве группы сравнения использовали быков голштинской породы (HOLST, $n = 42$). Установлено, что с увеличением доли кровности по голштинской породе наблюдается снижение генетического разнообразия, оцененного по среднему числу эффективных аллелей ($с 4,59 \pm 0,46$ до $3,87 \pm 0,53$), информационному индексу Шеннона ($с 1,60 \pm 0,13$ до $1,46 \pm 0,14$) и уровню наблюдаемой гетерозиготности ($с 0,779 \pm 0,053$ до $0,687 \pm 0,055$). Показано, что следствием кроссбридинга является повышение генетического сходства с HOLST: $F_{st} = 0,058, 0,036$ и $0,026$, $R_{st} = 0,088, 0,060$ и $0,050$, $D_{Nei} = 0,306, 0,178$ и $0,123$ для BW_PB, BW_KR1 и BW_KR2 соответственно. Снижение генетических различий между черно-пестрой и голштинской породами, обусловленное кроссбридингом, подтверждено результатами кластерного анализа. Таким образом, для эффективного управления генетическими ресурсами сельскохозяйственных животных необходим мониторинг оценки состояния аллелофонда и уровня генетической изменчивости в популяциях.

Ключевые слова: пул аллельной изменчивости; породы крупного рогатого скота; микросателлиты; биоразнообразие; генетическое разнообразие.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Багиров В.А., Брем Г. Динамика биоразнообразия отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015; 19(2):222–225. DOI 10.18699/VJ15.028

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Zinovieva N.A., Gladyr E.A., Bagirov V.A., Brem G. Dynamics of the biodiversity of black and white cattle influenced by cross-breeding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):222–225. DOI 10.18699/VJ15.028

DOI 10.18699/VJ15.028

УДК 575.2:636.2

Поступила в редакцию 15.12.2014 г.

Принята к публикации 26.01.2015 г.

© АВТОРЫ, 2015

e-mails: n_zinovieva@mail.ru; gottfried.brem@agrobiogen.de

Dynamics of the biodiversity of black and white cattle influenced by cross-breeding

N.A. Zinovieva¹, E.A. Gladyr¹, V.A. Bagirov¹, G. Brem^{1,2}

¹ L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Podolsk district, Moscow region, Russia

² Institute of Animal Breeding and Genetics, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

The inter-breed crossing (crossbreeding) permits one to introduce new alleles, extend genetic diversity, and achieve desired phenotypic characteristics of initial breeds. On the other hand, crossbreeding may cause a decrease in genetic differentiation of indigenous breeds due to loss of the part of their unique allele pool. The objective of the present work was to investigate the effect of crossbreeding on the allele pool variability of Russian Black and White cattle by using 10 microsatellite loci (BM1818, BM2113, ETH10, ETH225, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ILST005, ETH185, and ILST006). The study was performed with purebred pedigree bulls of the Russian Black and White breed (BW_PB, $n = 14$) and two groups of their crosses with Holsteins carrying 25,0–62,5 % (BW_KR1, $n = 16$) and less than 12,5 % of the Black and White gene pool (BW_KR2, $n = 67$). Purebred Holstein bulls (HOLST, $n = 42$) were used as a reference group. It was found that the increase in Holstein's blood could lead to the observed decrease in genetic diversity evaluated by the average number of effective alleles per loci (from $4,59 \pm 0,46$ to $3,87 \pm 0,53$), by the value of the Shannon index (from $1,60 \pm 0,13$ to $1,46 \pm 0,14$) and by the observed heterozygosity degree (from $0,779 \pm 0,053$ to $0,687 \pm 0,055$). It is shown that crossbreeding with Holsteins increases the genetic similarity to HOLST: $F_{st} = 0,058, 0,036$, and $0,026$; $R_{st} = 0,088, 0,060$, and $0,050$; $D_{Nei} = 0,306, 0,178$, and $0,123$ for BW_PB, BW_KR1, and BW_KR2, respectively. Decrease in the genetic difference between the Black and White breed and Holsteins due to crossbreeding is confirmed by cluster analysis. Thus, evaluation of the allele pool and the level of genetic variability in populations are necessary for the efficient management of farm animal genetic resources.

Key words: allele pool variability; cattle breeds; microsatellites; biodiversity; genetic differentiation.

Сохранение, повышение и использование биоразнообразия являются фундаментом поддержания устойчивости экосистем в целом и сельскохозяйственных экосистем в частности. Возрастание влияния антропогенных факторов вследствие развития интенсивных систем производства, ориентированных главным образом на увеличение экономической эффективности, приводит к использованию ограниченного числа культурных пород (The State of the World's Animal Genetic Resources ..., 2007). Такие породы постепенно вытесняют массивы, полученные на основе генофонда местного скота, оптимально адаптированного к условиям окружающей среды, но, как правило, уступающего культурным породам по хозяйственным показателям. Наряду со снижением численности наблюдается генетическое «разбавление» местных пород вследствие кроссбридинга с высокопродуктивными породами (Hiemstra et al., 2010). Среди молочных пород крупного рогатого скота под угрозой исчезновения вследствие интенсивного поглотительного скрещивания с голштинской породой находится аллелофонд отечественного черно-пестрого скота, формировавшийся столетиями на основе местного скота и адаптированный к различными природно-климатическим зонам страны. Поскольку локальные породы и региональные массивы скота вносят существенный вклад в генетическое разнообразие одомашненных видов (Muir et al., 2008; Долматова и др., 2011), то сокращение их численности и «разбавление» аллелофонда могут стать одной из основных причин снижения биоразнообразия одомашненных видов. Другим следствием поглощения отечественного генофонда может стать поступательное повышение уровня гомозиготности, обусловленное использованием в культурных породах ограниченного числа элитных быков, с чем связывают негативное проявление LoF мутаций (Van Raden et al., 2011), а также отрицательное воздействие на показатели фертильности (Bjelland et al., 2013).

Целью настоящей работы явилось изучение влияния кроссбридинга на состояние аллелофонда отечественного черно-пестрого скота.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили пробы спермы быков отечественной черно-пестрой породы (BW, $n = 97$) и голштинской породы (HOLST, $n = 42$), используемой в кроссбридинге. Выборка BW была представлена группа-

ми чистопородных (BW_PB, $n = 14$) и кроссбредных животных с кровностью по BW от 25,0 до 62,5 % (BW_KR1, $n = 16$) и менее 12,5 % (BW_KR2, $n = 67$).

Выделение ДНК проводили с использованием колонок Nexttec (Nexttec™ Biotechnologie GmbH, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Для оценки аллелофонда использовали панель из 10 микросателлитных локусов (BM1818, BM2113, ETH10, ETH225, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ILST005, ETH185, ILST006). Для характеристики аллелофонда использовали показатели эффективного числа аллелей (N_e), индекса Шеннона (I), наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) степени гетерозиготности. Влияние кроссбридинга на степень генетической дифференциации оценивали при парном сравнении изучаемых групп по значениям индекса F_{st} , индекса R_{st} , рассчитанного с использованием функции молекулярной дисперсии (AMOVA), и генетическим дистанциям (N_{ei}) (Nei et al., 1983). Влияние кроссбридинга на степень генетического сходства с HOLST оценивали на основании коэффициента подобия (Q), рассчитанного для числа кластеров ($k = 2$) без введения предварительной информации о породной принадлежности исследуемых индивидуумов (Pritchard et al., 2000). Для расчетов использовали программное обеспечение GenAlEx, v.6.1.4 (Peakall, Smouse, 2006) и Structure, v.3.2.1.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что отечественная черно-пестрая порода исходно обладает более высоким уровнем генетического разнообразия по сравнению с HOLST, оцененным по показателям N_e , I и H_o . Вследствие кроссбридинга с увеличением доли кровности по HOLST наблюдается поступательное снижение значений всех вышеназванных показателей (табл. 1).

Как следует из данных табл. 2, вне зависимости от используемых критериев оценки (F_{st} , R_{st} (AMOVA), N_{ei}) установлено повышение генетического сходства черно-пестрого скота по отношению к голштинской породе под воздействием кроссбридинга.

Кластерный анализ выявил распределение черно-пестрой и голштинской пород между двумя различными кластерами, что подтверждает их общее историческое происхождение. На различия в аллелофондах пород указывают более высокие значения членства индивидуумов BW_PB в первом кластере ($Q_1 = 0,272$ и $Q_2 = 0,728$), а

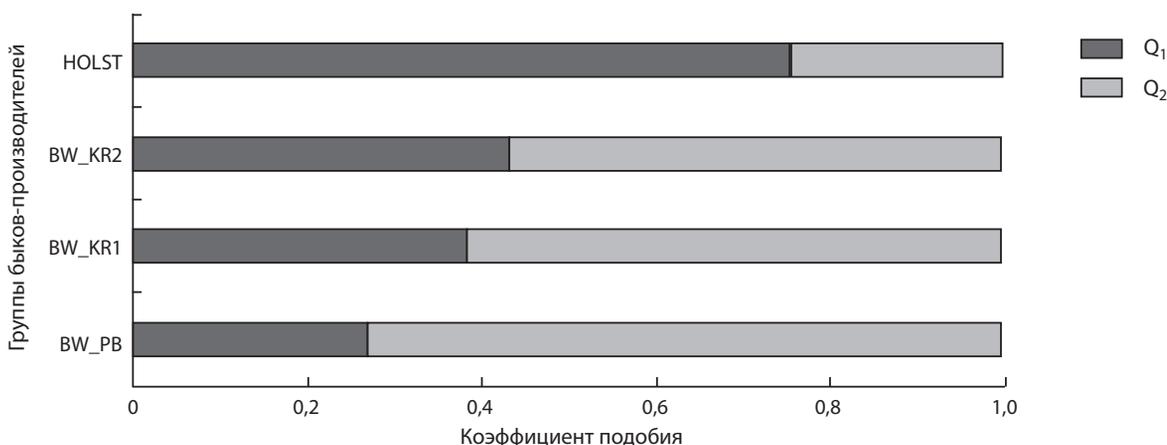
Таблица 1. Динамика генетического разнообразия у отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга с голштинской породой

Группа	Показатели генетического разнообразия			
	число эффективных аллелей, N_e	информационный индекс Шеннона, I	степень гомозиготности	
			наблюдаемая, H_o	ожидаемая, H_e
BW_PB	4,59 ± 0,46	1,60 ± 0,13	0,779 ± 0,053	0,751 ± 0,037
BW_KR1	4,00 ± 0,46	1,47 ± 0,13	0,719 ± 0,040	0,712 ± 0,039
BW_KR2	3,87 ± 0,53	1,46 ± 0,14	0,687 ± 0,055	0,692 ± 0,049
HOLST	3,48 ± 0,43	1,32 ± 0,14	0,657 ± 0,042	0,662 ± 0,049

Таблица 2. Изменение степени генетической дифференциации отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга

Группа	Показатели генетического разнообразия*		
	Fst	Rst (AMOVA)	Nei
BW_PB	0,058	0,088	0,306
BW_KR1	0,036	0,060	0,178
BW_KR2	0,026	0,050	0,123

* Значения показателей приведены в сравнении с HOLST.



Результаты кластерного анализа чистопородных и кроссбредных быков-производителей отечественной черно-пестрой и голштинской пород.

Ось X – коэффициент подобия Q (Pritchard et al., 20008), рассчитанный для числа кластеров $k=2$ (Q_1 и Q_2); ось Y – изучаемые группы быков-производителей: BW_PB – черно-пестрая чистопородная, BW_KR1, BW_KR2 – кроссы черно-пестрой и голштинской пород (25,0–62,5 % и менее 12,5 % крови черно-пестрой породы соответственно), HOLST – чистопородная голштинская.

индивидуумов HOLST – во втором кластере ($Q_1 = 0,756$ и $Q_2 = 0,244$). Следствием кроссбридинга отечественного черно-пестрого скота является возрастание степени его генетического сходства с голштинской породой. Это проявляется в поступательном росте значений Q_1 с возрастанием доли кровности голштинского скота у кроссбредных особей до $Q_1 = 0,388$ в группе BW_KR1 и $Q_1 = 0,435$ – в группе BW_KR (рисунок).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что следствием кроссбридинга отечественного черно-пестрого скота являются поступательное снижение биоразнообразия и возрастание его генетического сходства с голштинской породой.

Снижение генетического разнообразия отечественного генофонда пород крупного рогатого скота в целом и черно-пестрой породы в частности отражает опасную мировую тенденцию в животноводстве. Генетическое разнообразие – основа для поддержания разнообразия нутриентов в производимой с использованием животных пищевой продукции. Принимая во внимание, что более 90 % производства молока в Российской Федерации обеспечивается животными черно-пестрой породы, ее замещение или поглощение голштинской породой ставит под угрозу реализацию концепции рационального питания, которая рассматривается сегодня в качестве фундамента

для поддержания и улучшения среды обитания человека (Sustainable diets ..., 2010). Для сохранения биоразнообразия необходимо проведение постоянного мониторинга и контроля генетической изменчивости в породах сельскохозяйственных животных. Геномная информация может стать инструментом для оценки популяционно-генетических параметров пород животных и разработки оптимальных стратегий управления генетическими ресурсами в меняющихся условиях окружающей среды.

Благодарности

Исследования выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект RFMEFI60414X0062 и Российского научного фонда, проект № 14-36-00039.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Долматова И.Ю., Зиновьева Н.А., Горелов П.В., Ильясов А.Д., Гладырь Е.А., Траспов А.А., Сельцов В.И. Особенности аллелофонда башкирской популяции симментальского скота по микросателлитам. С.-х. биология. 2011;6:70-74.
Bjelland D.W., Weigel K.A., Vukasinovic N., Nkrumah J.D. Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome

- SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *J. Dairy Sci.* 2013;96(7):4697-4706. DOI: 10.3168/jds.2012-6435
- Hiemstra S.J., Haas Y., Mäki-Tanila A., Gandini G. Local cattle breeds in Europe Development of policies and strategies for self-sustaining breeds. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2010.
- Muir W.M., Wong G.K.-S., Zhang Y., Wang J., Groenen M.A.M., Crooijmans R.P.M.A., Megens H.-J., Zhange H., Okimoto R., Vereijkeng A., Jungerius A., Albers G.A.A., Lawley C.T., Delany M.E., MacEachern S., Cheng H.H. Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008;105(45):17312-17317. DOI: 10.1073/pnas.0806569105
- Nei M., Tajima F., Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J. Mol. Evol.* 1983;19(2):153-170.
- Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.* 2006;6:288-295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 2000;155(2):945-959.
- Sustainable diets and biodiversity: direction and solutions for policy, research and action. Eds B. Burlingame, S. Dernini. Rome: FAO, 2010.
- The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture – in brief. Eds D. Pilling, B. Rischkowsky. Rome: FAO, 2007.
- Van Raden P.M., Olson K.M., Null D.J., Hutchison J.L. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *J. Dairy Sci.* 2011;94(12):6153-6161. DOI: 10.3168/jds.2011-4624

Оборонительная реакция у соболей (*Martes zibellina*) при промышленном разведении

Е.Г. Сергеев

Лаборатория проблем звероводства, Москва, Россия

Проблема формирования типа поведения соболей в постнатальном онтогенезе изучена недостаточно. В исследованиях было установлено, что на формирование типа поведения соболей большое влияние оказывает антропогенный фактор. Представляет очевидный интерес выявление других составляющих, которые могут влиять на формирование типа поведения соболей по отношению к человеку. Изучались тип поведения щенков с возрастом, связь между полом и окраской щенков, зависимость между типом поведения щенков, величиной помета и происхождением родителей. Часть родителей 262 тестируемых щенков относилась к чистопородным по окраске животным (порода черный соболь), селекция которых велась в хозяйстве на протяжении 40 лет. Другие родители имели прилитие крови соболей, отловленных в 1990-х гг. на Камчатке и Урале (помесные). Тип поведения определяли по общепринятому тесту «на руку». Баллом «0» оценивали зверей, избегающих контакта. Зверей, шедших на контакт и демонстрировавших спокойный (положительная реакция) тип поведения, оценивали от +1 до +5 баллов. Зверей с агрессивным (отрицательная реакция) типом поведения оценивали от -1 до -4 баллов. Тестирование одних и тех же зверей проводили в возрасте 4, 5 и 6 месяцев. При заключительном тестировании в 6 месяцев 78,6 % щенков обоего пола проявили реакцию избегания, 20,2 % отнесены к спокойному типу и 1,2 % – к агрессивному. В результате проведенных исследований было установлено, что на формирование поведенческих реакций молодых соболей оказывает влияние пол зверей: среди самцов по сравнению с самками преобладают звери со спокойной реакцией (различия статистически достоверны, $p > 0,99-0,999$). Тип поведения молодняка соболей не связан с возрастом, но отмечено, что при каждом последующем тестировании доля спокойных зверей увеличивается (различия статистически не достоверны, $p < 0,90$). Не найдена статистически достоверная зависимость между окраской и домашним поведением щенков ввиду малочисленности таких зверей. Численность щенков в помете и породная принадлежность родителей не влияют на формирование типа поведения соболей.

Ключевые слова: *Martes zibellina*; соболь; поведение; домашность.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Сергеев Е.Г. Оборонительная реакция у соболей (*Martes zibellina*) при промышленном разведении. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):226-233. DOI 10.18699/VJ15.029

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Sergeev E.G. Defensive response to humans in farm-bred sables (*Martes zibellina*). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):226-233. DOI 10.18699/VJ15.029

Defensive response to humans in farm-bred sables (*Martes zibellina*)

E.G. Sergeev

Laboratory of Fur-Farming Problems, Moscow, Russia

The formation of behavior type in the postnatal development of sables is studied insufficiently. Studies of this hot topic showed that the anthropogenic factor has a great influence on behavior formation in sables. Identification of other components that can influence the formation of sable behavior of sables in relation to a human is of obvious interest. The objectives of our work were: (1) variation of behavior type in pups with age and (2) correlation of behavior with pup sex and coloration, litter size, and origin of parents. A total of 262 pups were tested. Part of their parents belonged to animals, thoroughbred for coloration («black sable» breed), whose selection had been conducted in farms for 40 years. Other parents originated from sables caught in 1990s in Kamchatka and the Urals (mongrels). The type of behavior was determined by the standard hand test. Animals avoiding contact were scored zero. Animals communicating with the experimenter and demonstrating calm behavior (friendly response) were scored +1 to +5. Animals that demonstrated aggressive behavior (fearful response) were scored -1 to -4. Tests of the same animals were repeated at ages of 4, 5, and 6 months. In the final test at 6 months, 78,6 % of pups of both sexes showed the avoidance response, 20,2 % were attributed to the calm type, and 1,2 % to aggressive. The experiment proved that the formation of behavioral reactions in young sables was influenced by the sex of animals. The calm response was more frequently demonstrated by males than by females ($p > 0,99-0,999$). Behavior type in young sables showed no association with age, but the proportion of calm animals increased in each successive test (differences statistically insignificant, $p < 0,90$). No statistically significant correlation could be found between coloration and tame behavior of pups because of small numbers of such animals. Litter size or parent breed did not affect the formation of behavior type in pups.

Key words: *Martes zibellina*; sable; behavior of sables; domestication.

Начало соболоводства отсчитывается с момента экспериментального решения проблемы размножения соболей, когда независимо друг от друга 3 апреля 1929 г. в соболиной лаборатории Московского зоопарка Петром Александровичем Мантейфелем и 27 апреля 1929 г. в Соловецком соболином питомнике Карлом Густавовичем Туомайненом от соболей был получен приплод (Трапезов, 2008, 2011).

В документальном фильме 1927–1928 гг. «Соловки» есть кадры, снятые в соболином питомнике. В то время «Солзверхоз» являлся самым крупным соболятником как по количеству экземпляров, так и по их подбору. Однако исследовательская работа с соболями там проводилась под грифом «для служебного пользования», и представленные в 1930 г. К.Г. Туомайненом рукописные отчеты по этой причине не подлежали публикации (Туомайнен, 1930).

Весной 1928 г. комиссия Госторга РСФСР в составе И.М. Данишевского, доктора биологических наук Б.А. Кузнецова, исполнительного секретаря Соловецкого отделения Архангельского общества краеведения П.А. Петряева произвела осмотр территории бывшего имения барона фон Толгрена, расположенного в 12 км от станции Пушкино, под строительство крупнейшей в стране 1-й Московской зоофермы, будущего зверосовхоза «Пушкинский», где с конца 1928 г. началось комплектование соболиной фермы, управляющим которой был назначен Петр Александрович Петряев (Куличков, Портнова, 1967; Палкин, 1989). В 1931 г. в производственных условиях здесь был получен первый приплод соболей. Именно с этого момента началась работа по созданию уникального стада ценных пушных зверей (Мишуков, 1998).

Вскоре начались интенсивные научные исследования биологии соболя. Над этим проектом работали: автор трудов по возрастной изменчивости соболей и куниц Б.И. Житков, исследователь физиологии размножения соболей И.Д. Старков, учитель многих поколений звероводов Е.Д. Ильина, будущий автор теории дестабилизирующего отбора Д.К. Беляев, специалист по фотопериодическому воздействию на протекание беременности у соболей Л.Г. Уткин, изучавший явление латентной беременности у соболей Р.В. Клер, один из первых дипломированных зоотехников-звероводов Ф.М. Ивонин, преподаватель кафедры звероводства М.К. Павлов, один из пионеров науки о кормлении соболей П.Т. Клецкин. В разработку методов и форм селекционно-племенной работы с сободем много труда вложили первые селекционеры зверосовхоза «Пушкинский»: Н.Т. Портнова, Б.А. Куличков, В.А. Мизгирева, Ю.М. Докукин, А.М. Амплеева, А.А. Бычкова, И.С. Демина, И.Ф. Кудин, Е.А. Кузнецова, А.М. Макарова, И.В. Митрофанова, А.Я. Чепцова.

Следует подчеркнуть, что в условиях промышленного разведения соболей, как, впрочем, и других пушных зверей, отбор стихийно и незаметно для самого селекционера шел и идет на доместикационный тип поведения, хотя существующий бонитировочный ключ не предусматривает отбора зверей по оборонительной реакции на человека (рис. 1).

Если посмотреть на исторический процесс доместикации соболей в динамике, то можно заметить, что более

чем за 25 поколений разведения в условиях клеточного содержания поведение соболей стало другим: у них происходил, и достаточно эффективно, движущий отбор на уменьшение стрессуемости и повышение стрессоустойчивости в условиях антропогенной среды. У отловленных в природе диких соболей в ряду поколений интенсивно осуществляется перестройка нервной системы (Трапезов, 2002). Так, уже в 1967 г. селекционеры зверосовхоза «Пушкинский» Б.А. Куличков и Н.Т. Портнова в своих публикациях сообщали следующее: «Если раньше мы боялись потревожить самку с молодняком, то теперь щенков осматриваем в день их рождения, чтобы своевременно выявить слабых и оказать им необходимую помощь. Условия содержания соболей совершенно изменились. В первые годы разведения каждому соболю предоставлялась клетка площадью 24 м² и высотой 4 м, в которой сохраняли естественную растительность, деревья. Но уже в 1932–1935 гг. площадь клеток сократили до 6 м², а высоту – до 2 м. В 1948–1950 гг. соболей, как и другие виды пушных зверей, перевели на содержание в клетках с приподнятыми сетчатými полами; площадь клеток сократили до 3 м², а высоту – до 1 м. Теперь соболя основного стада содержатся в клетках размером 1,2 × 0,9 × 1 м, а для молодняка текущего года рождения клетки еще меньше: 0,6 × 0,9 × 0,7 м, с механизированным поением и раздачей корма (Куличков, Портнова, 1967).

И все же до 1969 г. ни одной породы или типа пушных зверей не было признано, так как по существовавшей в то время инструкции селекционные достижения оформлялись только на домашних животных, а на пушных зверей клеточного разведения это не распространялось (Кузнецов, 2007). Для решения этой проблемы в декабре 1968 г. потребовалось провести специальную конференцию, приуроченную к 100-летию выхода в свет второй главной книги Ч. Дарвина «Изменение животных и растений под влиянием одомашнивания» (рис. 2). На основании материалов, рассмотренных на конференции, научно зарегистрировав значительные доместикационные преобразования у пушных зверей в ходе их разведения в неволе, в 1968 г. впервые в России пушных зверей отнесли к категории сельскохозяйственных животных (Афанасьев, 1968). После состоявшейся конференции в наступившем 1969-м году были утверждены первые породы пушных зверей клеточного разведения. И самой первой была утверждена порода пушкинский черный соболь (авторы: А.Т. Портнова, Б.А. Куличков, В.А. Мизгирева, Ю.М. Докукин, И.С. Демина, А.М. Амплеева, А.А. Бычкова, И.Ф. Кудин, Е.А. Кузнецова, А.М. Макарова, И.В. Митрофанова, А.Я. Чепцова).

Отбор и подбор при создании породы черного соболя включали следующее: 1) летняя бонитировка растущего молодняка в клетках с выделением лучших по развитию особей; 2) оценка хода линьки и сроков формирования зимнего волоса с одновременным выделением лучших особей по окраске и качеству опушения; 3) бонитировка молодняка после завершения «созревания» меха: каждого зверя берут в руки; 4) отобранные на племя звери (в большем количестве, чем это требуется на формирование основного стада) высаживаются в наиболее светлые клетки, отдельно самцы и самки, и вновь просматрива-



Рис. 1. Существующий бонитировочный ключ в настоящее время не предусматривает отбора зверей по поведению. 2005 г. Бонитировку соболей в Опытном хозяйстве ведут старейшина отечественного звероводства Г.А. Кузнецов и его ученик заведующий отделом генетики, селекции и разведения Научно-исследовательского института пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева Е.Г. Сергеев.

ются. Особи, сидящие рядом, сравниваются, худшие – отбраковываются; 5) отобранные лучшие особи, особенно самцы, сравниваются еще раз, для этого зверей помещают в небольшие переносные клетки, которые ставят рядом для дальнейшей, более детальной, оценки животных друг с другом; 6) максимальный балл за окраску выдается только тем зверям, у которых совершенно ровная черная окраска всего туловища, включая голову и уши, без горлового пятна; 7) бонитировке подлежит весь молодняк, в том числе и заведомо предназначенный к забою на шкурку, так как это дает возможность не только оценить качество родителей по потомству, но и проверить, насколько оправдана выбранная стратегия подбора пар; 8) повторная бонитировка зверей на втором году жизни с выбраковкой животных с ухудшением окраски; 9) для закрепления нужных признаков у отобранного поголовья проводился дальнейший подбор пар с учетом известных свойств линий и семейств. При подборе пар обязательно учитывается качество потомства этих зверей в прошлые годы (Портнова, 1941, 1966; Куличков, Портнова, 1967).

Начиная с 1970-х гг. появляются публикации по изучению связи поведения соболей в ходе разведения на специализированных зверофермах с их продуктивностью (Терновская, 1970, 1974а, б, 1975; Беляев, Терновская, 1973; Слугин, Паранич, 1974). Это было время, когда Зверопром РФ под руководством В.А. Афанасьева размещал заказы на проведение целенаправленных и конкретных исследований по соболю в научных учреждениях страны:

в Институте пушного звероводства и кролиководства, на кафедре звероводства Московской ветеринарной академии, в Институте цитологии и генетики в новосибирском Академгородке, в Институте охоты и звероводства в г. Кирове. После внезапного ухода из жизни В.А. Афанасьева и последовавшей за этим сменой руководства отраслью практика размещения заказов на научные исследования прервалась. В 1990 г. Зверопром прекратил свое существование, а вместо него заявила о себе общественная организация производителей клеточной пушнины, все усилия которой на сегодня сосредоточились на пропаганде, закупке и тиражировании селекционных достижений импортного норководства (преимущественно датского).

Следует сказать, что российский вклад в мировое клеточное пушное звероводство связан именно с соболеводством, поскольку конкурентоспособными на пушно-меховом рынке оказались соболеводческие хозяйства. К иллюстрации этого следует вспомнить слова одного из известных специалистов соболеводства И.Д. Старкова, который в 1947 г. предупреждал, что основным, наиболее перспективным и рентабельным объектом звероводства должен быть соболь, мех которого является самым дорогим. Единственным поставщиком меха соболя на международный рынок являлся СССР. Клеточное разведение соболей освоено только в СССР. Эту благоприятную конъюнктуру нужно использовать и всемерно форсировать разведение соболей, чтобы соболь как можно скорее стал ведущим объектом отечественного звероводства не только в количественном отношении, но и по рентабельности содержания (Старков, 1947).

В настоящей статье представлены материалы по изучению поведения растущих соболей в раннем онтогенезе. Исследовались следующие вопросы: 1) существует ли половой диморфизм в формировании поведения у растущего молодняка соболей; 2) изменяется ли оборонительная реакция на человека у соболят в период роста; 3) существует ли связь поведения с окраской, 4) влияют ли на формирование поведения численность щенков в помете и их происхождение.

Материалы и методы

Работа проводилась на растущем молодняке соболей на фермах подмосковных звероводческих хозяйств. Средовые условия для зверей – кормление, содержание, проведение зооветеринарных мероприятий – отвечали технологическим нормам, разработанным специально для клеточного соболеводства (Павлюченко и др., 1979).

Оценка оборонительной реакции на человека определялась в баллах по методу, вошедшему в англоязычную литературу под названием *hand catch test* (рис. 3–5) (Трапезов и др., 2008; Trapezov et al., 2012). Животные с реакцией страха оценивались баллом «0» (рис. 3). Экспрессивность ручного поведения (отсутствие реакции страха или агрессивности) колебалась от +1 до +5 баллов и оценивалась как положительная (рис. 4). Экспрессивность агрессивного поведения по отношению к человеку, согласно методике *hand catch test*, оценивалась от –1 до –4 баллов (рис. 5). Тестирование зверей по типам оборонительной реакции на человека (*hand catch test*) проводили в возрасте 4, 5



Рис. 2. Совещание по проблемам domestikации пушных зверей клеточного разведения, посвященное 100-летию выхода в свет книги Ч. Дарвина «Изменение животных и растений под влиянием одомашнивания» (1868).

Справа налево: доклад делает В.А. Афанасьев – начальник Главного управления звероводством МСХ СССР; Д.К. Беляев – директор Института цитологии и генетики СО АН СССР, председатель ВОГиС и Научного совета по проблемам генетики и селекции; В.Н. Помытко – начальник Управления науки по животноводству при МСХ СССР; Е.Д. Ильина – заведующая кафедрой звероводства Московской ветеринарной академии им. акад. К.И. Скрябина; А.Т. Ерин – главный редактор журнала «Кролиководство и звероводство».

и 6 мес. При этом учитывалось влияние на поведение растущего молодняка соболей таких факторов, как: 1) величина помета: малочисленный – от 1 до 3 щенков; многочисленный – больше 3 щенков; 2) принадлежность к породе: а) чистопородный тип при гомогенном разведении (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь); б) потомки от гетерогенного разведения (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь); 3) наличие влияния полового диморфизма на становление оборонительной реакции на человека.

Результаты и обсуждение

Влияние пола на формирование поведения растущего молодняка соболей

В каждом исследуемом возрасте (4, 5 и 6 мес.) доля самцов с положительной реакцией на человека была больше, чем самок (табл. 1). Различия во всех случаях статистически достоверны ($p > 0,999$). В 4 мес. самцов – 11,2 % против 6,2 % самок; в 5 мес. – 23,5 % против 14,0 %, в 6 мес. – 25,7 % против 13,6 % соответственно. Зверей с отрицательной реакцией на человека было очень мало – 1,1–2,2 %.

Изменение типа оборонительной реакции на человека в период роста

Из протестированных растущих соболят (268 самцов и 272 самки) в возрасте 4, 5, 6 мес. большинство животных (78 % самцов и 77,6 % самок) получали оценку «0».

У остальных соболят в разном возрасте зарегистрированы изменения в оборонительной реакции на человека.

Из данных табл. 1 следует, что среди соболят, меняющих реакцию на человека, количество животных с положительной реакцией возрастало у самцов от 30 в возрасте 4 мес. до 63 и 69 голов в возрасте 5 и 6 мес. соответственно. У самок – от 17 голов в возрасте 4 мес. до 38 и 37 в возрасте 5 и 6 мес. соответственно.

Несмотря на то что количество самцов с положительной реакцией на человека было почти в два раза больше, чем самок, статистически достоверных различий между самцами и самками не выявлено. Отсюда можно предположить, что тип поведения молодняка соболей (независимо от пола) с возрастом не меняется. Для подтверждения этого вывода был сделан более детальный анализ изменений в поведении соболят по месяцам (табл. 2).

Рассматривались следующие варианты изменения поведения зверей между тестированиями в два смежных месяца: от избегания контакта к спокойному (от «0» к «+») или к агрессивному поведению (от «0» к «-»); от агрессивного поведения к спокойному (от «-» к «+») или к избеганию контакта (от «-» к «0»); от спокойного поведения к агрессивному (от «+» к «-») или к избеганию контакта (от «+» к «0»). У самцов в возрасте 5 мес. по сравнению с четырехмесячными 41,5 % соболят изменили реакцию «избегание контакта» (оценка «0») на положительную «+»; 10,6 %, наоборот, вместо положительной реакции стали избегать контакта; у 44,7 % за этот период реакция оставалась прежней.



Рис. 3. Реакция страха (напряженная поза с готовностью ужать).



Рис. 4. Положительная реакция на человека (ручное поведение).

У самок в возрасте 5 мес. по сравнению с четырехмесячными 36,9 % изменили реакцию «избегание контакта» (оценка «0») на положительную «+»; 4,6 % стали избегать контакта вместо прежней положительной реакции; у 47,7 % за этот период реакция осталась прежней, а 7,7 % агрессивную реакцию изменили на «избегание контакта».

У самцов в возрасте 6 мес. по сравнению с пятимесячными произошли практически те же изменения типа поведения, что и в четырехмесячном возрасте. Исключением является то, что как у самцов, так и у самок в возрасте 6 мес. стало значительно больше животных, изменивших поведение с положительного на «избегание контактов» (оценка «0»): 23,4 и 24,6 % соответственно. Результаты анализа показали, что каких-либо четких закономерностей в изменении характера поведения соболей с четырех- до шестимесячного возраста не выявлено. Установлено, что среди соболей, как самок, так и самцов, изменявших с возрастом тип поведения, большинство (от 27,7 до 41,5 %)



Рис. 5. Соболю с отрицательной (агрессивной) реакцией на человека. При работе с таким животными для защиты рук от укусов используются специальные защитные средства.

животных в течение 30 дней меняют реакцию «избегание контакта» на положительную. От 4,6 до 24,6 % щенков меняют реакцию поведения на противоположную – с положительной на «избегание контакта». На остальные варианты изменения поведения приходится в разные месяцы от 1,1 до 7,7 %.

Таким образом, влияние возраста на окончательное формирование поведения соболей не выявлено.

Связь поведения с окраской

Сравнивались между собой соболя стандартной темно-коричневой окраски с соболями аббернтных окрасочных форм (паломино, пастель, пятнистые). Как видно из табл. 3, в период роста аббернтные по окраске соболята проявляют тенденцию к более ручному поведению, чем их ровесники стандартной окраски ($p > 0,90$).

Влияние численности щенков в помете на формирование поведения

Результаты изучения данной темы представлены в табл. 4. Среди 269 протестированных самцов 102 родились в малочисленных пометах и 167 – в многочисленных. Доля щенков, имевших спокойный тип поведения, в первом случае составила 30,4 %, во втором – 22,7 % (различия статистически достоверны ($p > 0,999$)).

Среди 272 протестированных самок 112 родились в малочисленных пометах и 160 – в многочисленных. Доля щенков, проявлявших спокойный тип поведения, в первом случае составила 22,1 %, во втором – 8,7 % (различия статистически достоверны ($p > 0,999$)).

Таким образом, в малочисленных пометах доля щенков с положительной реакцией на человека выше (25,7 %), чем в многочисленных (16,0 %) ($p > 0,999$). Половой диморфизм при этом не выявлен.

Таблица 1. Влияние пола и возраста на формирование оборонительной реакции на человека у растущего молодняка соболей

Тип оборонительной реакции на человека, балл	Возраст, мес.					
	4		5		6	
	<i>n</i> *	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
♂♂						
Положительный «+»	30	11,2	63	23,5	69	25,7
Отрицательный «-»	3	1,1	4	1,5	4	1,5
Проявление страха «0»	235	87,7	201	75,0	195	72,8
Итого	268	100	268	100	268	100
♀♀						
Положительный «+»	17	6,2	38	14,0	37	13,6
Отрицательный «-»	6	2,2	3	1,1	6	2,2
Проявление страха «0»	249	91,6	231	84,9	229	84,2
Итого	272	100	272	100	272	100

* Здесь и далее в табл. 2–5 *n* – число особей.**Таблица 2.** Изменение поведения у соболят в период роста

Варианты изменения поведения, балл	В 5 мес. по сравнению с 4 мес.		В 6 мес. по сравнению с 5 мес.	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
♂♂				
от «0» к «+»	39	41,5	29	30,8
от «0» к «-»	2	2,1	1	1,1
от «-» к «+»			1	1,1
от «+» к «0»	10	10,6	22	23,4
от «-» к «0»	1	1,1		
Не изменилось	42	44,7	41	43,6
Итого	94	100	94	100
♀♀				
от «0» к «+»	24	36,9	18	27,7
от «0» к «-»	2	3,1	3	4,6
от «+» к «-»			1	1,5
от «+» к «0»	3	4,6	16	24,6
от «-» к «0»	5	7,7	1	1,5
Не изменилось	31	47,7	26	40,1
Итого	65	100	65	100

Таблица 3. Проявление типа оборонительной реакции на человека у растущего молодняка соболей разной окраски

Тип оборонительной реакции на человека, балл	Окраска волосяного покрова			
	стандартная		аберрантная	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Положительный «+»	93	19,4	15	22,4
Отрицательный «-»	6	1,2	5	7,5
Проявление страха «0»	379	79,4	47	70,1
Итого	478	100	67	100

Таблица 4. Влияние размера помета на формирование типа оборонительной реакции на человека у растущего молодняка соболей

Тип оборонительной реакции, балл	Помет			
	малочисленный (1–3 щенка)		многочисленный (> 3 щенков)	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
♂♂				
Проявление страха «0»	70	68,6	125	74,8
Положительный «+»	31	30,4	38	22,7
Отрицательный «-»	1	1,0	4	2,5
По всем типам	102	100,0	167	100,0
♀♀				
Проявление страха «0»	85	76,8	143	89,4
Положительный «+»	24	22,1	14	8,7
Отрицательный «-»	3	1,1	3	1,9
По всем типам	112	100	160	100
♂♂ + ♀♀				
Проявление страха «0»	155	72,3	268	82,2
Положительный «+»	55	25,7	52	16,0
Отрицательный «-»	4	2,0	6	1,8
По всем типам	214	100	326	100

Таблица 5. Влияние происхождения на проявление оборонительной реакции на человека у растущего молодняка соболей

Родители	Тип оборонительной реакции на человека					
	проявление страха «0»		положительный «+»		отрицательный «-»	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
♂♂						
Влияние матерей						
Гомогенное разведение:						
Черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь	75	38,5	32	46,4	–	–
Гетерогенное разведение (потомки от скрещивания):						
Черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь	120	61,5	37	53,6	4	100,0
Итого	195	100	69	100	4	100
Влияние отцов						
Гомогенное разведение:						
Черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь	50	25,6	17	24,6	2	50,0
Гетерогенное разведение (потомки от скрещивания):						
Черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь	145	74,4	52	75,4	2	50,0
Итого	195	100	69	100	4	100
♀♀						
Влияние матерей						
Гомогенное разведение:						
Черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь	90	39,7	18	46,1	3	50,0
Гетерогенное разведение (потомки от скрещивания):						
Черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь	137	60,3	21	53,9	3	50,0
Итого	227	100	39	100	6	100
Влияние отцов						
Гомогенное разведение:						
Черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь	71	31,3	11	28,2	1	16,7
Гетерогенное разведение (потомки от скрещивания):						
Черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь	156	68,7	28	71,8	5	83,3
Итого	227	100	39	100	6	100

Влияние происхождения на формирование поведения у молодняка соболей

Для изучения этого вопроса были проанализированы результаты оценки поведения в двух группах: 1) гомогенное разведение (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь) и гетерогенное (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь).

Как видно из табл. 5, влияние происхождения матерей на формирование типа поведения сыновей отсутствует. Доля щенков с положительной реакцией при гомогенном разведении (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь) составила 46,4 %, при гетерогенном (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь) – 53,6 % ($p < 0,90$).

Отцами тестируемых щенков-самцов были 36 чистопородных соболей (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь) и 79 помесных (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь). Отмечено достоверное влияние на формирование поведения скрещивания черных соболей клеточного разведения с дикими соболями. Так, если при гомогенном чистопородном разведении доля щенков спокойного типа поведения составила 24,6 %, то в потомстве от скрещивания с дикими соболями их доля повышалась до 75,4 % ($p > 0,999$).

Аналогичная картина наблюдалась и по 272 щенкам-самкам. Не зафиксировано влияние матерей на формирование типа поведения дочерей: 46,1 % спокойных щенков в 1-й группе (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь) и 53,9 % – во 2-й группе (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь) ($p < 0,90$). В то же время установлено статистически достоверное различие ($p > 0,999$) по влиянию отцов: 28,2 % сыновей с положительным типом оборонительной реакции в 1-й группе (черный пушкинский соболь × черный пушкинский соболь) и 71,8 % – во 2-й группе (черный пушкинский соболь × дикий камчатский соболь).

В постнатальном онтогенезе растущего молодняка соболей при клеточном разведении выявлены особенности в проявлении оборонительной реакции на человека:

1) самцы проявляют более спокойную реакцию, чем самки ($p > 0,999$);

2) в малочисленных пометах доля щенков с положительной реакцией на человека (независимо от пола) составляет 25,7 %, в многочисленных – 16,0 % ($p > 0,999$);

3) в потомстве от скрещивания фермерских соболей с дикими (отловленными в природе и доставленными для размножения на ферму) статистически достоверно больше щенков, положительно реагирующих на человека (71,8 %), чем среди щенков от чистопородных фермерских родителей (28,2 %) ($p > 0,999$);

4) в динамике возраста в период от 120 до 180 дней (от 4 до 6 мес.) не выявлено изменений в становлении поведения;

5) хотя аберрантные по окраске соболята проявляют более ручное поведение, чем стандартные (22,4 против 19,4 %), эта разница статистически недостоверна ($P < 0,90$), возможно, из-за малой выборки (15 голов).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Афанасьев В.А. Изменения пушных зверей под влиянием одомашнивания. Собрание, посвященное 100-летию выхода в свет книги Чарлза Дарвина «Изменение животных и растений под влиянием одомашнивания» (1968), 18–20 декабря 1968 г. Тез. докл. М.: Изд-во Московского государственного ун-та, 1968; 23-28.
- Беляев Д.К., Терновская Ю.Г. Поведение и воспроизводительная функция животных. Корреляция оборонительного поведения соболей с их воспроизводительной способностью. Генетика. 1973;9(3):53-62.
- Кузнецов Г.А. Возможность ускорения создания селекционных достижений в звероводстве. Информационный вестник ВОГиС. 2007;11(1):233-237.
- Куличков Б.А., Портнова Н.Т. Русский соболь. М.: Колос, 1967.
- Мишуков Л.К. С чего началось соболеводство? Кролиководство и звероводство. 1998;(5/6):15.
- Палкин Г.А. Творческое наследие П.А. Петряева. Кролиководство и звероводство. 1989;(4):15.
- Павлюченко В.М., Уткин Л.Г., Григорьев М.Ю., Григорьев А.А., Имшенецкая Е.С., Кладовщиков В.Ф., Куличков Б.А., Портнова А.Т., Снытко Э.Г. Клеточное разведение соболей. М.: Колос, 1979.
- Портнова Н.Т. Опыт работы соболиной фермы Пушкинского звероводческого совхоза. Кролиководство и звероводство. 1941; (6):7-9.
- Портнова Н.Т. Наш опыт разведения соболей. Кролиководство и звероводство. 1966;(4):15-16.
- Старков И.Д. Биология и разведение соболей и куниц. М., 1947.
- Слугин В.С., Паранич В.В. Самопогрызание соболей, разводимых в неволе. Тр. НИИПЗК. М., 1974;XIII:272-280.
- Терновская Ю.Г. О популяционном полиморфизме оборонительного поведения. Матер. совещ. «Популяционная структура вида у млекопитающих». М., 1970.
- Терновская Ю.Г. Роль оборонительного поведения в размножении хищников семейства *Mustelidae*. Итоги научных работ 1973. Новосибирск: ИЦиГ, 1974а.
- Терновская Ю.Г. Онтогенез оборонительного поведения кунцеобразных в условиях эксперимента. Экологические и эволюционные аспекты поведения животных. М., 1974б.
- Терновская Ю.Г., Беляев Д.К. Некоторые особенности размножения соболя в связи с его поведением. Тр. 2. Всесоюз. совещ. по млекопитающим. МГУ. 1975.
- Трапезов О.В. О корреляции признаков у лисиц. Кролиководство и звероводство. 2002;(2):9.
- Трапезов О.В. Мантейфель Петр Александрович. Кролиководство и звероводство. 2008;(5):18-19.
- Трапезов О.В. Соболевоводство – вчера, сегодня, завтра. Перспективы развития клеточного соболевоводства в России. М., 2011.
- Трапезов О.В., Трапезова Л.И., Сергеев Е.Г. Влияние мутаций, затрагивающих окраску меха, на поведенческий полиморфизм в промышленных популяциях американской норки (*Mustela vison*) и соболя (*Martes zibellina*). Генетика. 2008;44(4):516-523.
- Туомайнен К.Г. 1930. Рукопись из фонда библиотеки ВНИИОЗ. Цит. по: Бакеев и др., 2003.
- Trapezov O.V., Trapezova L.I., Sergeev E.G. Coat color mutations and defensive reaction towards man in farm-bred minks and sables. Scientifur. 2012;36(3/4):396-403.

Механизм менделевской наследственности (к столетию опубликования монографии «The Mechanism of Mendelian Heredity» группой Т.Х. Моргана)

Е.Б. Музрукова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Статья посвящена столетию выхода в свет первой монографии Т.Х. Моргана, А. Стертеванта, Г. Меллера, К. Бриджеса «The Mechanism of Mendelian Heredity» (1915) (Механизм менделевской наследственности), в которой была изложена программа генетических исследований Моргана. Актуальность статьи определяется тем, что как ученый Т.Х. Морган является уникальной исторической фигурой, олицетворяющей собой развитие новой области биологии – генетики – в течение первых десятилетий XX в. Деятельность Моргана и его учеников позволяет изучать взаимодействие между генетикой и другими биологическими дисциплинами. Исторический анализ этой монографии позволяет выявить важные аспекты формирования генетики как науки. Кроме того, монография представляет собой яркий пример работы научной школы – первой научной школы в генетике, благодаря которой лидерство в генетических исследованиях перешло от Европы к Америке. В формировании хромосомной теории наследственности основную роль сыграли изучение мутаций и цитологический анализ хромосомных перестроек. Это послужило экспериментальным доказательством сцепления определенных генов в хромосоме и стало отправной точкой в открытии кроссинговера, что было огромным шагом вперед. Составление хромосомных карт, изучение хромосомных перестроек берут начало в школе Моргана. В Нобелевской лекции (1934 г.) Т.Х. Морган изложил не только результаты работы своей группы, но и программу развития генетики на долгие годы вперед.

Ключевые слова: наследственность; «дрозофильная» группа Т.Х. Моргана; генетика; хромосомы; кроссинговер; картирование; научная школа; Морган.

«The Mechanism of Mendelian Heredity» (The 100th anniversary of the first publication of the book by the group of T.H. Morgan)

Е.Б. Muzrukova

Vavilov Institute for the History of Science and Technology, Russian Academy of Science, Moscow, Russia

The article is dedicated to the 100th anniversary of the first Morgan's book, «The Mechanism of Mendelian Heredity» in 1915. The book presented the program of Morgan's genetic research. The necessity of this article stems from the fact that T.H. Morgan is a unique historical figure, which personifies the development of a new branch of biology, genetics, in the first decades of the 20th century. The works by Morgan and his disciples illustrate the relationships between genetics and other fields of biology. Historical analysis of the monograph sheds light to key points in the formation of genetics as a science in the early 20th century. Moreover, the activities of Morgan's group is a prominent example of a scientific school, the first in genetics. It is owing to that school, America gained the leadership in genetic research from Europe. Cytological analysis of chromosomal rearrangements and study of mutations played the key role in the formation of the chromosome theory of inheritance. By studying mutations in *Drosophila*, Morgan obtained an experimental proof of linkage of individual genes in a chromosome. Study of deviations in the linkage provided grounds for the discovery of crossover, which was a great stride forward. Construction of chromosome maps and investigation of chromosome rearrangements stem from Morgan's school. When reading his Nobel lecture in 1934, Morgan presented not only the results of his group but also a long-range program of genetics development.

Key words: heredity; *Drosophila* group; genetics; chromosomes; chromosomal crossover; scientific school; Morgan's scientific work; cytological analysis.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Музрукова Е.Б. Механизм менделевской наследственности (к столетию опубликования монографии «The Mechanism of Mendelian Heredity» группой Т.Х. Моргана). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(2):234-242. DOI 10.18699/VJ15.030

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Muzrukova E.B. «The Mechanism of Mendelian Heredity» (The 100th anniversary of the first publication of the book by the group of T.H. Morgan). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(2):234-242. DOI 10.18699/VJ15.030

DOI 10.18699/VJ15.030

УДК 575.1(091)

Поступила в редакцию 11.02.2015 г.

Принята к публикации 15.04.2015 г.

© АВТОР, 2015

 e-mail: muzrukova@mail.ru

Жизнь Т.Х. Моргана, его судьба и биография неотделимы от истории биологии XX в. Многообразие его научных интересов поражает: эмбриология, генетика, биохимия, эволюционная теория, генетика человека – все это нашло отражение в научной деятельности Моргана. С именем Моргана и его школы связан совершенно новый этап развития генетики. Модель внутреннего строения хромосом, построенная Морганом на основании картирования с применением рекомбинационного анализа, стала фактором, стимулировавшим развитие генетики и ее теоретических основ.

Начало работы «дрозофильной» группы

«Дрозофильная» группа – ученики, которых собрал вокруг себя Т.Х. Морган, – представляет собой уникальный случай в истории биологии (Allen, 1978) как по составу участников, так и по стилю работы, а также по результатам, которые были получены в очень короткие сроки. А. Стертевант и К. Бриджес были приняты Морганом на работу в 1910 г., Г. Меллер – в 1912 г. Они и составили ядро «дрозофильной» группы (Музрукова, 2002).

Работа группы в период с 1910 по 1915 гг. шла по трем основным направлениям. Прежде всего, это составление первых карт хромосом, на которых было отображено линейное расположение различных генов относительно друг друга по длине хромосомы. Другой областью интересов были уточнение, модификация и углубление понимания менделевских закономерностей, благодаря открытию Морганом и его учениками таких явлений, как множественный аллеломорфизм, летальные гены, гены-модификаторы. В основе третьего направления было открытие К. Бриджесом в 1914 г. явления нерасхождения хромосом, что не только привело к окончательному цитологическому доказательству роли хромосом в наследственности, но и дало в дальнейшем новую интерпретацию определения пола. Данные, полученные в рамках каждого из указанных направлений, вносили коррективы в основные положения менделизма.

А. Стертевант был первым, кто на практике применил теоретический вывод о линейном расположении генов в хромосоме. Положения и правила составления хромосомных карт были разработаны им совместно с Морганом еще в 1911 г. Результаты этой работы получили окончательное выражение в статье 1913 г., когда Стертеванту удалось составить первую генетическую карту хромосомы X дрозофилы (Sturtevant, 1913).

Благодаря открытиям школы Моргана в генетику был введен целый ряд новых понятий. К этому относится процесс кроссинговера, с помощью которого Морган в 1911 г. (1937) объяснил факт обмена участками хромосом.

Несмотря на то что Морган с самого начала придавал очень большое значение составлению хромосомных карт, он всегда подчеркивал, что карты – лишь модель, описывающая возможное строение хромосомы. Существенное дополнение было внесено в методику картирования благодаря исследованиям Меллера, выполненным в 1914–1915 гг. и опубликованным в его диссертации (Muller, 1916). Он предложил определять интенсивность интерференции (подавления кроссинговера вблизи пункта, где обмен уже произошел) количественно, путем деления фактически

наблюдаемой частоты двойного кроссинговера на частоту, ожидаемую теоретически. Этот показатель он назвал коэффициентом совпадения, или коинцидентией.

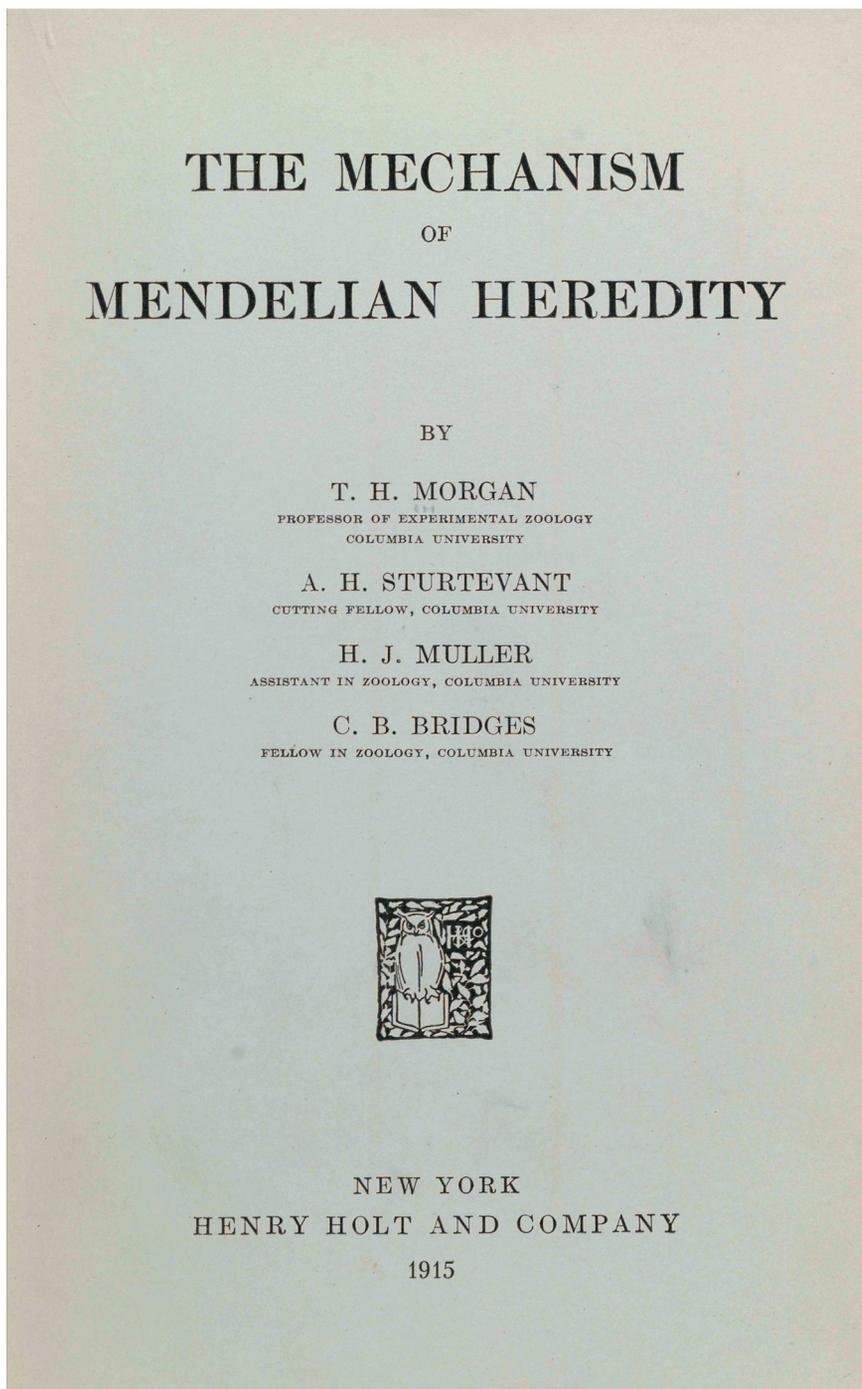
Оценивая начальный период работы по генетике рода *Drosophila*, Г. Меллер (его отношение к творчеству Моргана не всегда было однозначным) писал: «Очевидно, история первого периода «дрозофильной» группы будет переписана и пересказана в будущем не раз, но необходимо согласиться, что доказательство Морганом кроссинговера и его предположение, что между генами, расположенными друг от друга дальше, кроссинговер происходит чаще, чем между генами, расположенными ближе, было как удар грома, по мощности равный открытию Менделя ... Он дал пищу для всей нашей новой генетики» (По: Carlson, 1981. P. 52) (Пер. автора).

Благодаря открытиям Моргана и его учеников в генетику был введен целый ряд новых понятий, углубивших некоторые из положений теории Менделя. Были определены группы сцепления генов; показано, что число групп сцепленных генов у дрозофилы ограничено числом гаплоидного набора хромосом. Все открываемые вновь гены могли быть помещены в той или иной из четырех групп: три из них содержали много сцепленных генов, а одна – относительно мало. Начиная с 1914 г. вся работа по усовершенствованию и разработке карт хромосом проводилась К. Бриджесом, и карты в ранних сводках составлены именно им.

Большое значение для дальнейшего развития теоретических положений генетики имело открытие генов-модификаторов (термин А. Стертеванта). Этот термин обозначает ген, который сам по себе не оказывает особого действия, но, взаимодействуя с другим, основным для него, геном, заметно изменяет эффект, производимый последним. И хотя существенная часть работ по генам-модификаторам была выполнена после 1915 г., основы их изучения были заложены уже в первые пять лет работы «дрозофильной» группы.

Все факты, открытые в начале работы группы Моргана, постепенно привели исследователей к формулировке положения, согласно которому не существует полного соответствия между признаками и генами, их определяющими. Каждый признак есть результат уравновешенного действия многих генов, которые представляют собой систему, определенным образом взаимодействующую с окружающей средой. Гены могут иметь конвергентное действие, когда многие из них влияют на один и тот же признак, или дивергентное, когда один и тот же ген влияет на разные признаки. Но и в этом случае действие гена в целом остается неизвестным, видимым является лишь различие в действии, вызванное мутацией. Поэтому уже к 1915 г. стало очевидным, что поскольку признаки не эквивалентны генам, то потеря признака или его неполное выражение у гибрида еще не доказывает отсутствия соответствующего гена (Меллер, 1923).

В статье «Механизм наследственности, устанавливаемый на основании наследования сцепленных признаков», опубликованной в «*Popular Science Monthly*» в 1914 г., Морган как бы подвел итоги работы группы за несколько лет. Круг основных проблем, рассмотренных в данной работе, включал сцепление генов, кроссинговер, соответствие



Титульный лист книги.

числа групп сцепления числу хромосом у дрозофилы. В заключении Морган писал, что в статье он привел аргументы, лежащие в основе схемы линейного расположения генов в хромосомах, не претендуя на утверждение, что расстояние между генами, вычисленное в процентах, соответствует истинному расстоянию между ними. Также Морган еще раз подчеркнул различие своих представлений на строение хромосом и их роль в дифференцировке с воззрениями А. Вейсмана (о теории дифференцирующих делений, согласно которой детерминант и специфический признак – практически одно и то же). По Моргану, признак есть результат активности некоторой части хромосомы. Фактор может влиять на все части тела (эпистатическое действие гена) или

только на ограниченную его часть (Морган, 1937).

Все вышеизложенное позволяет сделать вывод о том, что основные принципы хромосомной теории наследственности были сформулированы группой Моргана до конца 1915 г., т. е. до выхода в свет эпохальной монографии «Механизм менделевской наследственности» (Morgan et al., 1915).

Сама «дрозофильная» группа, безусловно, представляла собой яркий пример научной школы – неформального творческого объединения, возникающего в силу внутренней потребности ученых в общении с коллегами, решающими сходные задачи и проблемы. Научная школа существует только потому, что производит теоретическое и эмпирическое знание, а это предполагает наличие четкой исследовательской программы, послужившей основой формирования школы как некой особой целостности. И план такой программы у Моргана, безусловного ее лидера, был с самого начала исследований. Опубликование монографии в 1915 г. ознаменовало начало детальной разработки научной программы школы, окончательно оформившейся и осуществленной в конце двадцатых годов прошлого века.

«Механизм менделевской наследственности»

Эта книга была в определенной степени знаковой. Она сыграла огромную роль в популяризации хромосомной теории в США и Европе, в формировании во всем мире исследовательских коллективов, занимающихся генетической проблематикой. В ней было показано, что менделевские закономерности справедливы не только для дрозофилы, но и для других видов животных и растений. Кроме того, результаты, полученные группой Моргана, позволили решить многие накопившиеся генетические проблемы, например объяснить феномены сцепления и неполного сцепления, отклонения от менделевских закономерностей. В балансовом определении пола приоритет К. Бриджеса несомненен. Этим были даны импульсы для дальнейших генетических исследований по изучению физиологической осно-

вы генной активности, отношения мутационного процесса к естественному отбору, дифференциальной активности генов в течение эмбриогенеза и некоторых других.

Интересно, что в первом издании «Механизма менделевской наследственности» авторы не употребляли термин «ген», а пользовались термином «фактор». Очевидно, это было связано с тем, что в то время слово «ген» применялось как удобное и абстрактное обозначение носителя наследственности, о природе которого можно было не распространяться (именно так понимал гены Иогансен, который ввел этот термин в 1909 г.). В отличие от Иогансена, Морган и его группа были уверены в материальной природе менделевских «факторов» и для того, чтобы подчеркнуть свою уверенность в этом, в своей работе не употребляли термин «ген».

В предисловии книги отмечено, насколько авторы убеждены в физической реальности менделевских факторов и их связи с хромосомами. Отвечая на возможные возражения, они писали: «Нас часто спрашивают: «Почему вы все время говорите о хромосомах?». Наш ответ состоит в том, что именно хромосомы заключают в себе механизм менделевских закономерностей, и с тех пор, как накапливается все больше точной информации о том, что хромосомы являются носителями менделевских факторов, было бы глупо закрывать глаза на эту очевидную реальность. Более того, как биологи мы интересуемся наследственностью не как математическими формулами, а, скорее, как проблемой, связанной с клеткой, яйцом и сперматозоидом» (Morgan et al., 1915. P. VIII–IX) (*Пер. автора*). Таким образом, принципиальная точка зрения, которую Морган и его ученики отстаивали уже в первые годы своей совместной работы, состояла в представлении о гене как биологической единице.

Однако точных данных о том, как функционируют продукты генной активности, к 1915 г. не существовало. Для Моргана процесс наследования, сама наследственность были всегда биологическими феноменами, а не специфическими взаимоотношениями определенных химических субстанций. Это было отражено в «Механизме менделевской наследственности»: «Часто говорят, что наша теория наследственности остается спекулятивной до тех пор, пока мы ничего не знаем о реакциях, которые трансформируют яйцо во взрослый организм. Не может быть вопроса о величайшей важности изучения механизма развития. Усилия многих исследователей экспериментальной эмбриологии многие годы были направлены на достижение этой цели.

Возможно, полученная информация поможет нам в лучшем понимании факториальной теории (хромосомной теории), но мы не можем утверждать, что знание химии всех пигментов и гормонов животных и растений приблизит нас к пониманию химического строения факторов наследственности, чья активность в конечном счете и продуцирует эти вещества» (Morgan et al., 1915. P. 226, 227) (*Пер. автора*). Эти представления помогают нам понять, почему Морган, осознавая всю важность функционального аспекта генной активности, сосредоточил свое внимание на механизме наследования и структуре наследственного вещества (отношения генов в хромосоме, взаимодействие между хромосомами). В то время имелись

веские основания для такого подхода и, может быть, гениальность Моргана как раз и проявилась в способности к самоограничению при выборе темы исследования. Гипотезы, касающиеся структуры хромосом и трансмиссии генов, могли быть подтверждены экспериментально, а изучение биохимических свойств генов или их действия в онтогенезе было в то время недоступно.

Основные положения хромосомной теории, приведенные в «Механизме менделевской наследственности»:

все гены принадлежат к той или иной группе сцепления.

Число групп сцепления для каждого вида растений и животных является величиной постоянной, оно равно числу пар хромосом, характерному для каждого вида;

каждая группа сцепления представляет собой совокупность генов, расположенных в соответствующей хромосоме в линейном порядке;

гены, расположенные в одинаковых участках гомологичных хромосом, являются аллеломорфными друг к другу и поэтому при наследовании ведут себя в соответствии с законом менделевского расщепления. Гены же, расположенные в негомологичных хромосомах, ведут себя по правилу независимого комбинирования; неаллеломорфные гены, расположенные в одной и той же хромосоме, наследуются совместно. Однако степень этого сцепления колеблется, в зависимости от расстояния генов друг от друга в пределах хромосомы. Чем больше это расстояние, тем больше число нарушений сцепления;

нарушение сцепления происходит путем кроссинговера – обмена участками гомологичных хромосом. Степень сцепления и, соответственно, частота кроссинговера зависят лишь от расстояния между конкретными генами.

Становление новой генетики совпало с началом Первой мировой войны, поэтому сведения о работах Моргана и его школы почти не проникали в Европу. Может быть, это обстоятельство в какой-то степени положительно повлияло на формирование хромосомной теории. В Америке Морган был не просто лидером нового направления, но и непререкаемым авторитетом в этой области. Тот круг оппонентов, который сложился в Европе за долгие годы общения Моргана с европейскими эмбриологами, безусловно, критически воспринял бы многие положения работы 1915 г., что психологически могло повлиять на темп исследований «дрозофильной» группы.

В 1920–1921 гг., когда искусственная изоляция была прервана и идеи Моргана стали распространяться по всему миру, хромосомная теория уже имела под собой такую фактическую базу, что никакие критические возражения не могли поколебать ее основ. Невозможно охватить все генетические исследования, проводившиеся в 1920-е годы, но можно выделить некоторые из них, соответствовавшие программе школы Моргана, благодаря которым к концу 1930-х годов сформировалось направление, по праву получившее название классической генетики (Olby, 1974). Все большее значение в эти годы приобретает цитогенетический анализ, благодаря которому подчас резко изменялись сложившиеся представления о генетической структуре хромосом. При посещении в 1921 г. лаборатории Моргана

в Колумбийском университете У. Бэтсон вынужден был согласиться с основными выводами хромосомной теории. Склоненная над микроскопом К. Бриджеса фигура Бэтсона символизировала нечто большее, чем просто признание первым менделистом мира новой генетики. Она символизировала переход лидерства в генетических исследованиях от Европы к Америке.

Развитие идей Моргана и его научная школа

Открытие Г. Меллером в 1927 г. мутагенного действия рентгеновских лучей дало возможность более углубленного исследования мутационного процесса и внутренней структуры хромосом (Музрукова, 1997). В последующие годы использование облучения рентгеновскими лучами и цитологический анализ полученных таким образом хромосомных aberrаций полностью подтвердили гипотезу о принадлежности определенной группы сцепления к соответствующей паре хромосом; распределении групп генов по хромосоме и их линейном расположении.

Однако полное цитологическое доказательство того, что при кроссинговере происходит физический обмен участками гомологичных хромосом, было дано К. Штерном (Stern, 1931). Его идея была проста и изящна. Если две гомологичные хромосомы гетероморфны (а он создал их у дрозофилы при помощи хромосомных aberrаций), то они микроскопически различимы и в случае кроссинговера. Две кроссоверные хромосомы должны отличаться от двух исходных. На большом фактическом материале на примере пары половых хромосом он показал существование явления перекреста, который во всех описываемых случаях был безошибочно обнаружен благодаря гетероморфности хромосом. Все это позволило Штерну посвятить свою работу Т. Моргану – «творцу генетической теории кроссинговера» – в честь его 60-летия и закончить работу словами: «Теперь теория кроссинговера перестала быть теорией – она стала фактом» (Stern, 1931. S. 586) (Пер. автора).

В США, где профессиональное сообщество биологов организовалось позднее, чем в Европе, само создание хромосомной теории совпало с формированием новой американской биологии, отличной от европейской и обладающей собственными ценностями. В период с 1915 до конца 1920-х годов хромосомная теория находилась в процессе дисциплинарного становления (становления теоретической и экспериментальной базы и институционализации). Поэтому в Америке влияние Моргана и его «дрозофильной» группы было очень большим. Морган сумел сделать то, что не удалось в свое время первому менделисту мира У. Бэтсону, – не только создать школу генетики в Колумбийском университете, но и институционально оформить ее, придать генетике статус академической дисциплины. Это стало возможным в немалой степени благодаря прекрасному развитию цитологии в США, в чем огромная заслуга принадлежит Э. Вильсону, признанному классику цитологии XX столетия. Постоянная поддержка, оказываемая Вильсоном Моргану и его ученикам, была важным стимулом в их работе.

У. Бэтсону созданию генетической школы помешали особенности его личности. Он критически относился к исследованиям как коллег, так и к своим собственным.

Признаки, наследуемые в соответствии с законами Менделя, настолько многочисленны и существенны, а возможности для их комбинации столь обширны, что ученый меньшего масштаба посвятил бы всю жизнь подробному изучению практического применения этих законов – поле для создания генетической школы. Бэтсон занимался этим только до 1912 г., остаток своей жизни он потратил на изучение отклонений от законов Менделя. На огромном материале ему удалось убедительно показать, что эти законы не только действительны, но и не всегда справедливы. А научная школа для развития нуждается в накоплении фактов, подтверждающих безоговорочную правоту ее основных постулатов.

Успешная научно-педагогическая деятельность Моргана, несомненно, влияла на восприятие основных положений хромосомной теории не только в Америке, но и во всем мире. В период с 1915 по 1930 гг. им было написано несколько фундаментальных монографий и огромное число статей. «Дрозофильная» группа в 1923 г. выпустила первое практическое руководство по генетике дрозофилы, что привлекло много новых последователей хромосомной теории (Morgan et al., 1923). Статьи Моргана и его учеников публиковались в наиболее авторитетных научных и научно-популярных журналах. Будучи одним из основателей и членом редколлегии таких изданий, как «*Journal of Experimental Zoology*» (1904) и «*Genetics*» (1916), Морган стремился, чтобы работы по генетике дрозофилы получали систематическое освещение на их страницах. Его тесная дружба со многими редакторами крупных биологических журналов способствовала популяризации работ группы.

Т.Х. Морган пропагандировал свои работы и чтением лекций по основным проблемам генетики в различных американских университетах, а также в Европе. Его лекция (1922) в Лондонском королевском обществе может служить образцом доступного изложения сложнейших научных проблем (Allen, 1978). В то же время Морган никогда не брался за темы, носившие оттенок сенсационности и поверхностной аффектации. Он всегда отказывался от публичных выступлений по евгенической проблематике и по теме «биология и религия».

Николай Иванович Вавилов, один из лидеров российской генетики, посетил Т. Моргана в 1921 г. Основной причиной визита Вавилова в США была закупка семян зерновых культур для пополнения семенного фонда, который понес значительный урон в результате засух и плохих урожаев на территории РСФСР. У Вавилова было множество профессиональных вопросов к основателю американской генетики. Например, ему представлялось маловероятным расположение генов в хромосомах в виде бусин на нити. Т.Х. Морган предложил Н.И. Вавилову самому убедиться в этом, посвятив несколько дней демонстрации опытных материалов. Общаясь с Вавиловым, Морган заметил, что согласится с любой другой предложенной гипотезой, которая сможет объяснить результаты проведенных экспериментов. Люди, хорошо знавшие основателя хромосомной теории, вспоминали, что Морган был очень корректным спорщиком, всегда очень доброжелательным, готовым помочь любому в решении как научных, так и бытовых проблем.

Публичному успеху работ школы Моргана, безусловно, способствовало участие членов его группы в многочисленных симпозиумах, конференциях и конгрессах, где завязывались научные и личные контакты. Этому благоприятствовало также пребывание Моргана на посту президента различных биологических обществ, создание которых стимулировало быстрый расцвет американской биологии. Морган был в разные годы президентом Общества экспериментальной биологии и медицины (1910–1912), президентом Национальной академии наук США (1927–1931), Американской ассоциации содействия науке (1930), президентом VI **Международного генетического конгресса** (1932).

20 октября 1933 г. Нобелевский комитет вынес решение о присуждении Т.Х. Моргану Нобелевской премии, денежный эквивалент которой Морган разделил на три части: Морган, Стертевант, Бриджес. Речь, прочитанная Морганом при вручении премии в Стокгольме 34 июня 1934 г., представляет собой блестящее научное эссе как по форме, так и по содержанию. Она демонстрирует пример удивительного научного предвидения, так как многие вопросы, поставленные в ней Морганом, были впоследствии решены. В этой речи Морган проанализировал историю взаимоотношений между факторами наследственности и теорией гена, остановился на вопросах применения генетики в медицине (Морган, 1937. С. 189–225). Говоря о природе гена, о том является ли он материальной частицей или абстрактной категорией, Морган подчеркнул, что поскольку в 1930-е годы не было доказательств и четких сведений о природе гена, все рассуждения об этом являются «беспочвенными спекуляциями».

Ученики Моргана, работавшие с ним в разное время в Колумбийском университете или в Калифорнийском технологическом институте, занимали впоследствии должности профессоров генетики не только в американских университетах, но и в вузах по всему миру. Даже простое перечисление их имен показывает, как широко должны были распространиться идеи хромосомной теории не только в Америке, но и в Европе.

Г. Меллер, будущий лауреат Нобелевской премии, преподавал в университетах США. Он много путешествовал по Европе, работал в Берлине и Эдинбурге, три года прожил в СССР, оказав огромное влияние на развитие советской генетики. Ф. Пэйн, один из первых учеников Моргана, связал свою карьеру с университетом Индианы; Ш. Метц 15 лет работал в Колд Спринг Харборе, преподавал в университете Джона Гопкинса в Балтиморе, Г. Плаф работал в Амхерсте и каждое лето читал курс лекций по генетике в Вудс-Хоуле; Д. Лэнсфилд преподавал в Колумбийском университете.

Среди иностранцев, работавших по несколько лет в лаборатории Моргана, особо следует отметить О. Мора из Норвегии, Ф. Добржанского из России, К. Штерна из Германии. Все они внесли весомый вклад в хромосомную теорию. Отто Мор, вернувшись в Норвегию, расширил область применения хромосомной теории, занявшись генетикой человека. Курт Штерн, впервые получивший цитологическое доказательство кроссинговера в 1931 г., вынужден был эмигрировать из Германии в США в 1933 г. и много лет работал в Беркли (Калифорния). Ф. Добржан-

ский, ученик Ю.А. Филипченко, приехал в Колумбийский университет в 1927 г. как стипендиат Рокфеллеровского фонда. В лаборатории Моргана он провел больше года, затем работал в Калифорнийском технологическом институте, в Рокфеллеровском институте, Университете Санта-Круз, в Калифорнийском университете в Дэвисе. Добржанский как никто другой способствовал началу проведения в Америке работ по эволюционной генетике, привнес в генетические исследования основы российской школы генетики популяций (Голубовский, 2000).

Совершенно очевидно, что при подобном составе «команды» Моргана и активности его учеников можно было ожидать, что уже через несколько лет хромосомная теория займет доминирующие позиции как в США, так и в Европе. В это время большую роль в распространении идей классической генетики сыграло применение генетических знаний в сельскохозяйственной практике. В 1932 г. было создано Американское генетическое общество как ветвь Американского общества естествоиспытателей. Американские экспериментальные сельскохозяйственные станции и институты с энтузиазмом восприняли принципы генетики. Многие работы, связанные с гибридизацией кукурузы, имели свои истоки именно в этих организациях (**The American Development ...**, 1988). **К середине 1920-х годов** генетика по праву занимает лидирующие позиции в американской биологии, превращаясь в фундаментальную биологическую дисциплину, что способствовало успеху идей школы Моргана и их восприятию мировым сообществом.

При оценке вклада научной школы важно проанализировать, как происходило изменение теоретического контекста знания под влиянием новых идей. Перестройка фундамента научной дисциплины в результате ее внутреннего развития, как правило, начинается с накопления фактических данных, которые не находят объяснения в рамках сложившейся ранее парадигмы. Такие факты могут выражать новые характеристики объектов, которые наука включает в орбиту исследования при решении новых эмпирических и теоретических задач. К обнаружению неизвестных фактов могут привести совершенствование средств и методов исследования, использование нового объекта исследования (как это и произошло в случае с дрозофилой).

К созданию хромосомной теории наследственности, ее становлению и распространению в мире вполне можно применить следующее теоретическое положение: коренная перестройка основ исследования означает изменение самой стратегии научного поиска. Однако всякая новая стратегия утверждается не сразу, а в длительной борьбе с прежними установками и традиционным видением реальности. «Процесс утверждения в науке ее новых оснований определен не только предсказанием новых фактов и генерацией конкретных теоретических моделей, но и причинами социокультурного характера. Новые познавательные установки ... должны быть вписаны в культуру соответствующей исторической эпохи и согласованы с лежащими в ее фундаменте ценностями и мировоззренческими структурами» (Степин, 1992. С. 171).

Исследования Моргана и его школы в американской историко-научной литературе, как правило, рассматри-

ваются как классический пример научной революции Т. Куна. Морган и его ученики предложили новую теоретическую концепцию, приложимую к проблемам генетики и обладающую высокой объяснительной способностью. Эта концепция четко определила, что такое доминантность и рецессивность, сцепление, мутации, рекомбинации и т. д. В эти понятия, благодаря генетическому анализу, был внесен биологический смысл. Концепция Моргана открыла новые направления исследования: картирование, искусственное получение мутаций, типы экспериментальных скрещиваний, природа определения пола, расположение генов в хромосомах. Распространение идей Моргана и его школы в короткий срок создало во всем мире сообщества единомышленников, которые через некоторое время получили статус «нормальной науки», по Куну.

Следует отметить, что в случае хромосомной теории существовал и новый методологический подход к объекту исследования. Хотя Морган пользовался уже существовавшими понятиями (ген, генотип, сцепление, аллели и т. д.), введенными в науку корифеями менделизма Бэтсоном и Иогансенем, эти понятия совершенно по-новому звучали в хромосомной теории. Наполненные реальным содержанием, они позволили рационально описывать явления генетической трансмиссии. Кроме того, теоретическое обоснование строения хромосомы, явлений сцепления и кроссинговера впервые в истории генетики дало возможность проводить целенаправленную проверку различных гипотез. Сочетание цитологического анализа с гибридологическими скрещиваниями позволило прийти к углубленному изучению наследственной основы организма. Смене методологии способствовал еще один важнейший момент.

Эмбриологические исследования на протяжении долгого времени заставляли Моргана воспринимать наследственность в интегративном смысле: как передачу наследственности от родителей к потомкам и как трансляцию определенной генетической информации в признаки взрослого организма. В 1910 г., когда Морган опубликовал первую работу по наследственности признаков дрозофилы, сцепленных с полом, он писал: «Мы пытаемся рассматривать проблему наследственности идентично проблеме развития. Слово «наследственность» обозначает свойства зародышевых клеток, которые находят свое выражение в развивающемся и развившемся организме» (Morgan, 1910. P. 449) (*Пер. автора*). Однако через 16 лет, в 1926 г., в монографии «Теория гена» Морган полностью отделил передачу наследственных свойств от изучения их развития (эмбриологии). Термин «наследственность», многозначный еще в начале XX столетия, неотделимый от эмбриологии и эволюции в работах первых менделистов, стал означать только изучение материальных субстанций (генов), передающихся от одной генерации к другой. Такую драматическую смену в фундаментальном определении собственных воззрений Морган смог совершить, опираясь на генетические эксперименты. Изменение это было действительно драматическим, если учесть, что Морган всегда понимал тесную связь наследственности и развития. Тем не менее Морган отверг и многолетнюю биологическую традицию, и свои собственные эмбриологические исследования. Благодаря этому в работах

школы Моргана «наследственность» утратила свой интегративный смысл, и сфера ее применения была ограничена изучением трансмиссии признаков (1915–1935). Именно в эти годы школа Моргана создает «архитектонику» классической генетики и свою научную программу.

Отделив процесс передачи наследственности от нерешенных и нерешаемых в то время проблем эмбриологии (1915–1926), Морган и его группа как бы очертили область наиболее успешного приложения своих сил. Если бы они попробовали совместить проблемы развития и наследственности, что соответствовало европейской традиции, вряд ли хромосомная теория развивалась бы так успешно во всем мире. Сам Морган никогда не терял интереса к эмбриологии и вернулся к ней на склоне лет. Он верил, что в конечном итоге гены должны быть интерпретированы в эмбриологических понятиях, но он был достаточно прагматичен, чтобы на время отодвинуть в сторону проблемы развития.

Работы группы Моргана в 1920-е годы привлекли внимание мирового сообщества. К Моргану ехали ученики со всего мира, поскольку старый путь исследования генетических проблем в связи с феноменом развития в те годы становился бесперспективным. За несколько лет Моргану и его школе удалось выработать научную программу, а это нечто большее, чем просто хорошие идеи. В рамках научной программы формулируются базисные положения научной теории, теория как бы вырастает на фундаменте научной программы. Научная программа, как правило, претендует на всеобщий охват всех явлений и исчерпывающее объяснение всех фактов по данной проблеме. Реализация научной программы включает в себя и чисто практические моменты – возможность публикаций, финансовую поддержку, признание общества. Все эти факторы влияли на выбор Морганом и его учениками пути исследования и принципиальную установку – изучать генетику в четко очерченных границах.

В становлении нового направления, безусловно, большую роль сыграло и его практическое приложение – быстрые успехи в сельскохозяйственной практике США (гибридизация кукурузы), в медицинской генетике. Морган получил в 1933 г. Нобелевскую премию по физиологии и медицине. Значение имела и прагматическая тенденция, свойственная американской науке. Финансовую поддержку получали наиболее значимые фундаментальные проекты, ориентированные на решение научных, социальных и экономических проблем. При этом от биологии перестали требовать незамедлительных рекомендаций и сиюминутной отдачи, отношения академических биологов и практиков характеризовались формулой «эксперт – клиент».

В монографии «*The Expansion of American Biology*» (1991) показано, что отличительная черта американской науки – преимущественное финансирование научных программ частными благотворительными фондами и организациями. Если до 1920 г. частные ассигнования были явно недостаточными, а государственные – просто мизерными, то с 1920-х годов финансовая поддержка благотворительных организаций стала ощутимее. К середине XX в. щедрое финансирование науки и хорошие материальные условия позволили США занять ведущее положение в мировой науке.

Развитие биологии в США неразрывно связано с деятельностью благотворительных организаций, таких как различные Рокфеллеровские фонды, фонды Карнеги, Рассел Сейдж, Гуггенхайма и другие, которые субсидировали конкретные программы исследований, призванные решать научные и социальные проблемы. Во главе этих организаций стояли, как правило, высококомпетентные люди, такие как А. Грегг (Рокфеллеровский фонд) или Ф. Осборн (фонд Карнеги), которые пользовались большим авторитетом в научном сообществе, тонко улавливая потребности общественного развития и вместе с тем чутко реагируя на результаты научных исследований. Нередко они одновременно выполняли должностные обязанности в научных организациях.

Что касается работы группы Моргана, то в период с 1910 по 1915 гг. она финансировалась самим Морганом при поддержке администрации Колумбийского университета. Такое положение не могло продолжаться долго, поскольку расширялась сфера исследований и, соответственно, росли расходы. Морган обратился в 1920 г. в фонд Карнеги за финансовой поддержкой и получил ее в размере 11 000 долларов.

С 1940-х годов генетика переживала новый этап своего развития – зарождение биохимической и молекулярной генетики. Корни этих направлений можно проследить исторически: они находят свои истоки в школе Моргана. Еще в 1930-е годы Морган неоднократно подчеркивал, что генетику надо изучать с различных точек зрения, причем особенно важен физиологический аспект – влияние продуктов действия генов на обмен веществ. Поэтому он старался обеспечить тесный контакт своей группы не только с физиологами, но и с представителями других специальностей. В конце 1930-х гг. в лаборатории Моргана стажировались Бидл, Эфрусси, Гаффрон, Дельбрюк, имена которых стали впоследствии широко известны. Дж. Бидл работал по цитогенетике растений, Морган прекрасно отзывался о его работе. Б. Эфрусси – стипендиат Рокфеллеровского фонда из Парижа, изучал образование пигмента у дрозофилы, Г. Гаффрон – биохимик из Берлина, анализировал биохимические продукты генов. М. Дельбрюк, под влиянием Н. Бора занявшийся биологическими проблемами, исследовал применение физических методов к генетическим проблемам. В дальнейшем в Берлине он вошел в состав группы физиков и биологов, вплотную подошедших к открытию генетической роли ДНК.

Непосредственное влияние генетики дрозофилы на каждого из этих исследователей выразилось, прежде всего, в том, что они вынесли четкое представление о необходимости смены объекта исследования и перехода к работе с микроорганизмами, который явился переломным и завершающим этапом от классической генетики к молекулярной генетике, расцвет которой пришелся на 50–60-е годы XX столетия. При этом следует подчеркнуть, что дрозофила была и остается универсальным модельным генетическим объектом (Юрченко и др., 2015).

Можно определенно сказать, что центром, из которого выросла вся современная генетика, была школа Моргана. Ее структура, отношения «учитель – ученики» была классически иерархической. Морган осуществлял общее руководство группой, определял цели, предо-

ставляя детали экспериментов своим ученикам. Он, как лидер группы, которого ученики почтительно называли «боссом», сумел создать вокруг себя дух сердечности и научного равенства, стимулируя молодых исследователей к неформальному общению и дискуссиям. Не навязывая своего участия, он всегда был готов выслушать и помочь любому, кто нуждался в его помощи. Кроме того, как опытный руководитель, он уверенно ориентировался в сложном механизме межличностных отношений в группе, стремясь придать ключевую позицию той научной роли, которая обеспечивает наиболее успешную реализацию данной фазы исследовательского процесса.

С нашей точки зрения, школа Моргана была и одной из первых так называемых сетевых структур организации научных исследований, значение которых особенно возросло на современном этапе развития науки. Р.А. Фандо приводит мнение известного генетика Г. Денна, отражающее состояние науки XX столетия: «Всякая современная наука ... является частью одного переплетенного целого, основывающегося на общих основных принципах, с общим прошлым и общим будущим, и было бы неестественным и обманчивым разбивать ее на отдельные национальные единицы» (Фандо, 2005. С. 12). Это высказывание особенно актуально в отношении развития классической генетики в XX столетии. Все, кто занимался генетикой в 1920–1930-е годы, были так или иначе связаны между собой, ориентируясь на работы школы Моргана как на некий идеал исследований.

А.В. Олескин (1998) в своих работах показал, что в сетевой структуре нет жестко закрепленного лидера. «Ячейки» сети объединены одной проблемой, за каждой из подпроблем закреплен свой творческий лидер. Как мы видим, генетика первоначально имела своего лидера, но затем идеи школы Моргана распространились по всему миру, осуществлялся интенсивный неформальный обмен информацией, генетики всего мира были в определенном смысле единой группой. Поэтому понятие сетевой структуры можно применить к школе Моргана на этапе ее расцвета совершенно обоснованно. Причем это была одна из первых сетевых исследовательских структур в биологии.

Работы школы Моргана, выдающегося биолога XX столетия, дают уникальную возможность проанализировать влияние, взаимодействие и взаимопроникновение идей различных генетических школ Европы и США, их развитие и переход на новый уровень исследования. Поэтому так важно вспомнить столетний юбилей выхода в свет первой коллективной монографии «дрозофильной» группы Моргана «Механизм менделевской наследственности», в которой впервые были изложены основные идеи школы Моргана.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Голубовский М.Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Borey Art., 2000.
Меллер Г. Результаты десятилетних исследований с *Drosophila*. Усп. эксперим. биологии. 1923;(3):314.

- Морган Т.Х. Избранные работы по генетике. М.: ОГИЗ-Сельхозгиз, 1937.
- Музрукова Е.Б. К истории химии и морфологии клеточного ядра. Историко-биологические исследования. 1997;11:53-66.
- Музрукова Е.Б. Т.Х. Морган и генетика. Научная программа школы Т.Х. Моргана в контексте развития биологии XX столетия. М.: Грааль, 2002.
- Олескин А.В. Междисциплинарные сетевые группы. Вестник РАН. 1998;(11):223-226.
- Степин В.С. Философская антропология и философия науки. М.: Высш. шк., 1992.
- Фандо Р.А. Формирование научных школ в отечественной генетике в 1930–1940-е гг. М.: Изд. дом И.И. Шумиловой, 2005.
- Юрченко Н.Н., Иванников А.В., Захаров И.К. История открытий на дрозофиле – этапы развития генетики. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(1):39-49.
- Allen G.E. Thomas Hunt Morgan. The Man and His Science. Princeton: Princeton Univ. Press, 1978.
- Carlson E.A. Genes, Radiation and Society. Ithaca: Cornell Univ. Press, 1981.
- Morgan T.H. Chromosomes and Heredity. Am. Nat. 1910;(44):445-510.
- Morgan T. An attempt to analyze the constitution of the chromosomes on the basis of the sex-linked inheritance in *Drosophila*. Journal Exp. Zool. 1911;(11):365-414.
- Morgan T.H., Sturtevant A., Muller H., Bridges G. Laboratory Direction for an Elementary Course in Genetic. N.Y.: Henry Holt&Co, 1923.
- Morgan T.H., Sturtevant A., Muller H., Bridges C. The Mechanism of Mendelian Heredity. N.Y.: Henry Holt & Co., 1915.
- Muller H.I. The Mechanism of Crossing-over. Am. Nat. 1916;50:193-221.
- Olby R. The Path to the Double Helix. London, 1974.
- Stern C. Zytologisch-genetische Untersuchungen als Beweise fur" Morganische Theorie des Faktoren ausstauschs. Biol. Zentr. 1931;51:586.
- Sturtevant A. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. J. Exp. Zoology. 1913;(14):43-59.
- The American Development of Biology. Eds R. Rainger, K. Benson, J. Maienschein. Philadelphia. Philad. Univ. Press, 1988.
- The Expansion of American Biology. Eds K. Benson, J. Maienschein, R. Rainger. New Brunswick: Rutgers Univ. Press, 1991.

✉ e-mail: vavilov_journal@bionet.nsc.ru

Проспект Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090. Отв. секретарь редакции: С.В. Зубова, тел. (383)3634977*5415.
Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-45870 выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 20 июля 2011 г. При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна. Издание подготовлено информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН. Зав. отделом: Т.Ф. Чалкова. Редакторы: А.А. Ончукова, И.Ю. Ануфриева.
Дизайн: А.В. Харкевич. Компьютерная графика и верстка: А.В. Харкевич, Т.Б. Коняхина. Подписано в печать 10.06.2015 г.
Формат бумаги 60 × 84¹/₈. Уч.-изд. л. 13,72. Усл.-печ. л. 10,7. Тираж 200 экз. Заказ № 145.

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН», Морской проспект, 2, Новосибирск, 630090.